



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



***Lactobacillus acidophilus* KULLANILARAK ÜZÜM
TURŞUSU ÜRETİMİ VE ÜRÜNÜN *Escherichia coli*
VE *Bacillus cereus* ÜZERİNE İNHİBİSYON
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Burcu Sıla GÖRAL

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İzmir
2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

***Lactobacillus acidophilus* KULLANILARAK ÜZÜM
TURŞUSU ÜRETİMİ VE ÜRÜNÜN *Escherichia coli* VE
Bacillus cereus ÜZERİNE İNHİBİSYON ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Burcu Sıla GÖRAL

Danışman: Doç. Dr. Gülten GÜNDÜZ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

İzmir
2019

Burcu Sıla Gör al tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “*Lactobacillus acidophilus* Kullanılarak  z m Turşusu  retimi ve ürünün *Escherichia coli* ve *Bacillus cereus*  zerine İnhibisyon Etkisinin İncelenmesi” başlıklı bu alışma E  Lisansüstü Eğitim ve  ğretim Yönetmeliği ile E  Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve  ğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 20/08/2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyekluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri  yeleri:

Jüri Başkanı

:Doç. Dr. Gülten GÜNDÜZ


Raportör  ye

:Prof. Dr. Duygu KIşLA

 ye

:Dr. Öğr. Üyesi Seval DAğBAğLI

İmza



EGE.ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Lactobacillus acidophilus* Kullanılarak Üzüm Turşusu Üretimi ve Ürünün *Escherichia coli* ve *Bacillus cereus* Üzerine İnhibisyon Etkisinin İncelenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

20 / 08 / 2019



Burcu Sıla Göral

ÖZET***Lactobacillus acidophilus* KULLANILARAK ÜZÜM TURŞUSU ÜRETİMİ VE ÜRÜNÜN *Escherichia coli* VE *Bacillus cereus* ÜZERİNE İNHİBİSYON ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

GÖRAL, Burcu Sıla

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülten GÜNDÜZ

Temmuz 2019, 102 sayfa

Bu tez çalışmasında, üzüm (*Vitis vinifera*), hiren (*Armoracia rusticana*) ve üzüm sırası kullanılarak hazırlanan geleneksel üzüm turşusunda probiyotik özellikteki *Lactobacillus acidophilus* La-5 ile *Bacillus cereus* ve *Escherichia coli*'nin canlı kalma durumunun araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla üzüm turşusu *L.acidophilus* La-5 ile 25°C'de 5 hafta boyunca olgunlaştırılmış ve 4°C'de 5 ay boyunca depolanmıştır. Olgunlaşma ve depolama aşamalarında ürünün küf maya, *L.acidophilus* ve toplam laktik asit bakteri sayıları belirlenmiş, *L.acidophilus* La-5'in ve laktik asit bakterilerinin olgunlaşma süresinde 10⁶ kob/ml düzeylerinde canlılığını koruyamadığı gözlenmiştir. Üründeki küf ve maya sayısı ilk haftadan itibaren azalmış, depolama süresi sonunda belirleme limitinin altında kalmıştır. Üzüm turşusuna *B.cereus* ve *E.coli* bakterileri 10³ ve 10⁶ kob/ml düzeylerinde inoküle edilmiş, *E.coli* 1 hafta gibi kısa sürede canlılığını kaybetmiş, *B.cereus* ise 5 aylık depolama süresi sonunda 1,56-1,72 log kob/ml değerinde canlı kalmıştır. Çalışmada, hiren kökünün *B.cereus*, *E.coli* ve *L.acidophilus* La-5 üzerine antimikrobiyal etkisinin araştırılması amacıyla MİK (Minimum inhibisyon konsantrasyonu), MBK (Minimum bakterisidal konsantrasyon) ve disk difüzyon testleri uygulanmış, MİK ve MBK %6,25-%50 arasında saptanmıştır. Bu tez çalışması sonucunda, geleneksel üzüm turşusuna ilave edilen *L.acidophilus*'un istenen düzeyde canlılığını sürdüremediği ve üzüm turşusunun *B.cereus* ve *E.coli* üzerinde inhibitif etkisinin olduğu saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: probiyotik, hiren, üzüm turşusu, antimikrobiyal etki

ABSTRACT**PRODUCTION OF GRAPE PICKLE USING *Lactobacillus acidophilus* AND INVESTIGATING THE INHIBITION EFFECT OF THE PRODUCT ON *Escherichia coli* AND *Bacillus cereus***

GÖRAL, Burcu Sıla

MSc in Food Eng.

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gülten GÜNDÜZ

July 2019, 102 pages

Grape pickle is a traditional food that made with grape (*Vitis vinifera*), horseradish (*Armoracia rusticana*) and grape syrup. In this thesis, it was aimed to investigate the survival of probiotic *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* in grape pickles. For this purpose, probiotic *Lactobacillus acidophilus* added into traditional grape pickles, pickles ripened in 25°C for 5 weeks and stored in 4°C for 5 months. Mold, yeast, *L.acidophilus* and total lactic acid bacteria numbers have been investigated during then ripening and storage periods, *L.acidophilus* La-5 and total lactic acid bacteria couldn't survive in the grape pickles during the storage period. Yeast and mold numbers started to decrease from the first week, at the end of the storage period, it was below the detection limit. *B.cereus* and *E.coli* inoculated into grape pickles at 10³ cfu/ml and 10⁶ cfu/ml, *E.coli* lost its viability in only 1 week, *B.cereus* numbers was found 1.56-1.72 log cfu/ml at the end of the storage time. Additionally, in this thesis, antimicrobial effect of horseradish root against *B.cereus*, *E.coli* and *L.acidophilus* La-5 have been investigated with MIC (Minimum inhibition concentration) and MBC (Minimum bactericidal concentration). MIC and MBC values was found between 6.25% and 50% for horseradish root. As a result of this thesis, it was established that *L.acidophilus* couldn't survive in the traditional grape pickle, grape pickle has an inhibition effect on *B.cereus* and *E.coli*.

Keywords: probiotic, horseradish, grape pickle, antimicrobial effect

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında, geleneksel bir gıda olan üzüm turşusunun kimyasal, mikrobiyolojik ve duysal özellikleri incelenmiştir. Ayrıca hiren bitkisinin antimikrobiyal özellikleri araştırılmıştır. Bu doğrultuda, bitkisel probiyotik gıdalar ve hiren bitkisinin özellikleri üzerine birçok çalışma incelenmiştir. Bu çalışmaların amacı, bitkisel probiyotik gıdalara yönelik çalışmalara ilham olmak ve geleneksel gıdalara olan ilgiyi canlandırmaktır. Değerli danışman hocam Doç.Dr. Gülten GÜNDÜZ'ün ve arkadaşlarımın büyük desteği ile tamamladığım yüksek lisans tezimin başka bilimsel çalışmalara da faydalı bir kaynak olmasını diliyorum.

İzmir

Burcu Sıla GÖRAL

20/08/2019

İÇİNDEKİLERSayfa

ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ	xi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
TABLolar DİZİNİ	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xxi
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Üzüm, Üzüm Turşusu ve Özellikleri.....	3
2.2 Hiren Bitkisi ve Antimikrobiyal Özellikleri.....	4
2.3 Probiyotikler, Bitkisel Gıdalarda Kullanımı ve Probiyotiklerin Canlılığını Etkileyen Faktörler.....	8
2.3.1 Probiyotikler ve probiyotiklerin bitkisel gıdalarda kullanımı.....	8
2.3.2 Probiyotiklerin canlılığını etkileyen faktörler.....	14
2.3.3 Probiyotiklerin antimikrobiyal özellikleri ve insan sağlığına etkileri.....	23

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1 Gereç.....	29
3.1.1 Üzüm ve üzüm şırası.....	29
3.1.2 Hiren kökü.....	29
3.1.3 Test kültürleri.....	29
3.2 Yöntem.....	29
3.2.1 Üzüm turşusunun hazırlanması.....	29
3.2.1 Kültürlerin hazırlanması.....	29
3.2.2 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının üretimi ve depolanması.....	31
3.2.3 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi.....	31
3.2.4 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının kimyasal özelliklerinin belirlenmesi.....	33
3.2.5 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının duyuşal özelliklerinin belirlenmesi.....	33

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

3.2.6 Üzüm turşusunun olgunlaştırılması ve depolanması sırasında <i>B.cereus</i> ve <i>E.coli</i> 'nin canlı kalma durumunun belirlenmesi.....	34
3.2.7 Hirenin (<i>Armoracia rusticana</i>) antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi.....	35
3.2.8 İstatistiksel Analizler.....	37
4.BULGULAR VE TARTIŞMA.....	38
4.1 Probiyotik İçeren ve İçermeyen Üzüm Turşularının Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	38
4.1.1 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının olgunlaştırılması sırasında mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi.....	38
4.1.2 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının depolanması sırasında mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi.....	49
4.1.3 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının depolanması sırasında kimyasal özelliklerinin belirlenmesi.....	56

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

4.1.4 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının duyuşal özelliklerinin belirlenmesi.....	68
4.1.5 Üzüm turşusunun olgunlaştırılması ve depolanması sırasında <i>B.cereus</i> ve <i>E.coli</i> 'nin canlı kalma durumunun belirlenmesi.....	69
4.1.6 Hirenin (<i>Armoracia rusticana</i>) antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi.....	78
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	83
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	84
TEŞEKKÜR.....	101
ÖZGEÇMİŞ.....	102
EKLER.....	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Hiren kökü bitkisi (<i>Armoracia rusticana</i>).....	5
2.2 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşusu örnekleri.....	31
4.1. Olgunlaştırma periyodunda örneklerin küf sayısındaki değişim.....	42
4.2 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin maya sayısındaki değişim.....	42
4.3 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin LAB sayısındaki değişim.....	43
4.4 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin <i>L.acidophilus</i> La-5 sayısındaki değişim.....	46
4.5 Depolama periyodunda örneklerdeki küf sayısının değişimi.....	53
4.6 Depolama periyodunda örneklerdeki maya sayısının değişimi.....	53
4.7 Depolama periyodunda örneklerdeki <i>L.acidophilus</i> La-5 sayısının değişimi.....	55
4.8 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin pH değerleri.....	60
4.9 Depolama periyodunda örneklerin pH değerleri.....	60
4.10 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin toplam titrasyon asitliği.....	64
4.11 Depolama periyodunda örneklerin toplam titrasyon asitliği.....	64

ŞEKİLLER DİZİNİ (devamı)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.12 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin briks değerleri.....	67
4.13 Depolama periyodunda örneklerin briks değerleri	67
4.14 Olgunlaştırma periyodunda yüksek doz <i>B.cereus</i> içeren üzüm turşusu örneklerindeki <i>B.cereus</i> sayısındaki değişim.....	72
4.15 Olgunlaştırma periyodunda yüksek doz <i>B.cereus</i> içeren üzüm turşusu örneklerindeki <i>B.cereus</i> sayısındaki değişim.....	72
4.16 Yüksek doz <i>E.coli</i> içeren seyreltilmiş örneklerdeki <i>E.coli</i> sayısının değişimi.....	76
4.17 Düşük doz <i>E.coli</i> içeren seyreltilmiş örneklerdeki <i>E.coli</i> sayısının değişimi.....	78

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Yaygın olarak kullanılan probiyotikler.....	9
4.1. Olgunlaştırma periyodunda örneklerin küf sayısındaki değişim.....	39
4.2 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin maya sayısındaki değişim.....	40
4.3 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin LAB sayısındaki değişim.....	44
4.4 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin <i>L.acidophilus</i> La-5 sayısındaki değişim.....	46
4.5 Depolama periyodunda örneklerin küf sayısının değişimi.....	50
4.6 Depolama periyodunda örneklerin maya sayısının değişimi.....	51
4.7 Depolama periyodunda örneklerin LAB sayısının değişimi.....	53
4.8 Depolama periyodunda örneklerin <i>L.acidophilus</i> La-5 sayısının değişimi.....	54
4.9 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin pH değişimi.....	58
4.10 Depolama periyodunda örneklerin pH değişimi.....	59
4.11 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin toplam titrasyon asitliği tartarik asit cinsinden değişimi.....	62

TABLolar DİZİNİ (devam)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.12 Depolama periyodunda örneklerin toplam titrasyon asitliği tartarik asit cinsinden değişimi.....	63
4.13 Olgunlaştırma ve depolama periyodunda örneklerin briks değerlerinin değişimi.....	66
4.14 Örnek gruplarının duyuşal değerlendirme sonuçları.....	68
4.15 Yüksek doz <i>B.cereus</i> içeren örneklerde olgunlaştırma süresince <i>B. cereus</i> sayısındaki değişim.....	71
4.16 Düşük doz <i>B.cereus</i> içeren örneklerde olgunlaştırma süresince <i>B. cereus</i> sayısındaki değişim.....	71
4.17 Yüksek ve düşük doz <i>E.coli</i> içeren örneklerdeki <i>E.coli</i> sayısının değişim.....	74
4.18 Yüksek doz <i>E.coli</i> içeren seyreltilmiş örneklerdeki <i>E.coli</i> sayısının değişimi.....	75
4.19 Düşük doz <i>E.coli</i> içeren seyreltilmiş örneklerdeki <i>E.coli</i> sayısının değişimi.....	77

TABLULAR DİZİNİ (devam)

4.20 Hiren metanol ve hiren su ekstraktlarının farklı

mikroorganizmalar üzerindeki MİK, MBK ve disk difüzyon analizi

sonuçları.....79



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
a_w	Su aktivitesi
a^*	Kırmızılık indeksi
b^*	Sarılık indeksi
IC_{50}	Lipaz aktivitesini %50 azaltan konsantrasyon
LC_{50}	Böceklerin yarısını öldüren konsantrasyon
Meq/Trolox	Trolox eşdeğeri
pH	Bir çözeltinin asitlik veya bazlık değerini belirten ölçü birim
Pa	Pascal
v/v	Hacim/hacim
$^{\circ}C$	Santigrat derece
<u>Kısaltmalar</u>	
AITC	Allil izotiyosiyanat
ATP	Adenozintrifosfat
AFB ₁	Aflatoksin B ₁
AFB ₂	Aflatoksin B ₂
BETC	Benzil izotiyosiyanat

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
FAO	Food and Agriculture Organization/Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Food and Drug Administration/Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FOS	Fruktooligosakkarit
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
GOS	Galaktooligosakkarit
g	Gram
ITC	İzotiyosiyanat
kob/ml	Koloni oluşturan birim/mililitre
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
log	Logaritmik birim
MBK	Minimum bakterisidal konsantrasyon
MDD	Majör depresif bozukluk
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ml	Mililitre
mM	Milimol
NaOH	Sodyumhidroksit
PEITC	Fenil izotiyosiyanat
ppm	Milyonda bir birim
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SOS	Soya oligosakkariti
spp	Türler
WHO	World Health Organization/Dünya Sağlık Örgütü
µm	Mikrometre

1.GİRİŞ

Beslenme trendleri, yapay koruyucu içermeyen gıdalara yönelmekte, bu da geleneksel gıdalara olan ilgide artışa neden olmaktadır. Bu gıdalar içerisinde bitkisel kaynaklı geleneksel gıdalar önemli yer tutmaktadır. Sağlıklı beslenme konusunda probiyotik ürünlerin tüketimi konusu önem arz etmektedir. Probiyotiklerin, süt ürünlerinin doğal yapısında bulunması nedeniyle bu ürünlerde kullanımı avantajlıdır. Ancak, süt ürünlerini diyet alışkanlıkları nedeniyle tüketmeyen, laktoz intoleransına ve yüksek kolesterol değerlerine sahip bireylerin tüketimine uygun bitkisel kaynaklı probiyotik gıda çalışmaları da artmaktadır. Meyve, sebze ve tahıllar yüksek oranda vitamin, mineral ve biyoaktif bileşen içermeleri, kolay erişilebilir olması gibi nedenlerle toplumun büyük kesiminin tüketimine uygun gıdalardır. Meyveler ile vücuda alınan kalsiyum, retinol, E vitamini, folat, nikotinik asit, riboflavin, pantotenik asit, β -karoten ve biyotin genom hasarını düzeltmede etkili oldukları belirtilmiştir (Patel, 2017).

Probiyotik içeren birçok meyve ve sebze suyunun üretimi ticari olarak yapılmakta, bu konudaki akademik çalışmalar da artarak devam etmektedir. Probiyotiklerin meyve ve sebze sularında canlılığını etkileyen pH, titrasyon asitliği, moleküler oksijen, a_w , şeker, tuz ve katkı maddeleri gibi gıda ile ilgili faktörlerin yanında; ısı işlem, ambalaj materyali, inkübasyon sıcaklığı, probiyotik suş ve inokulum miktarı gibi faktörler de bulunmaktadır (Patel, 2017). Özellikle enkapsülasyon tekniklerinin ve kaplama materyallerinin geliştirilmesi ile probiyotiklerin mide ve bağırsakta uzun süre canlılığını koruması sağlanabilmektedir. *Lactobacillus* spp. meyve sularında pH 4,3 ile 3,7 aralığında canlılığını sürdürmektedir. *Bifidobacterium* spp. ise pH 4,6 değerlerinde canlılıklarını sürdürebilmektedir (Tripathi ve Giri, 2014).

Literatürde meyve ve sebzelerin probiyotiklerle zenginleştirilmesi ile ilgili birçok çalışma olmakla birlikte, geleneksel üzüm turşusu ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Arıcı ve Coşkun, (2001) tarafından yapılan çalışmada, 26 farklı hardaliye örneği, kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan incelenmiştir. Hardaliye, üzüm turşusuna benzer bir ürün olmakla beraber, içerisinde farklı olarak hardal bitkisi ve/veya benzoik asit katkısı içermektedir.

Ülkemize özgü geleneksel bir gıda olan üzüm turşusunun tüketimi belli bölgeler ile sınırlı kalmaktadır. Yapılan bu tez çalışmasında üzüm turşusu ilk kez geleneksel yöntemle göre laboratuvar koşullarında ve probiyotik ilaveli olarak üretilmiştir. Hazırlanan üründe probiyotiğin canlılığı belli periyotlarda araştırılmıştır. Ürüne *Bacillus cereus* ve *Escherichia coli* bakterileri inoküle edilmiş, bu bakterilerin üretim ve depolama boyunca canlılığı incelenmiş ve ürünün mikrobiyolojik kalitesi belirlenmiştir. Üzüm turşusu içerisinde bulunan hırcan bitkisi, içerdiği izotiyosiyanat bileşikleri ile yüksek antimikrobiyal özellik göstermekte ve gıda koruyucu olarak kullanılmaktadır. Çalışmanın diğcr bir aşamasında hırcan ekstraktlarının farklı mikroorganizmalar üzerine inhibisyon etkisi MİK, MBK ve disk difüzyon yöntemleri ile incelenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Üzüm, Üzüm Turşusu ve Özellikleri

Üzüm turşusu, üzüm (*Vitis vinifera*), hiren (*Armoracia rusticana*) ve kaynatılmış üzüm şırası kullanılarak üretilen geleneksel bir gıdadır. Ülkemizde çoğunlukla Trakya ve Nevşehir bölgesinde tüketilmektedir. Üzümler salkımlarıyla birlikte kavanoza yerleştirildikten sonra aralarına ve üzerine soyulmuş ve dilimlenmiş hiren kökü çubukları yerleştirilmektedir. Daha sonra kaynatılıp soğutulmuş üzüm şırası kavanoza doldurulur. Kavanoz bir ay süre ile ürünün hazır hale gelmesi için oda sıcaklığında bekletilir. Tüketim sırasında yaklaşık 1:1 su ile karıştırılarak servis edilir.

Üzüm, içerdiği vitamin, mineral ve biyoaktif bileşenler bakımından oldukça yararlı bir meyvedir. Toscano vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, üzümün yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu, yüksek miktarda kateşin, izokuersetin ve prosiyanidin B1 bileşenlerini içerdiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada düzenli egzersize tabi tutulan farklı yaşlardaki bir grup insanın kan kolesterol seviyesi ölçülmüştür. Egzersiz ile birlikte üzüm suyu tüketiminin HDL'yi %20 oranında artırdığı, LDL'yi ise %7-20 oranında azalttığı belirlenmiştir. Zuanazzi vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, yaşları 50-67 arasında değişen 25 kadın, 30 gün boyunca günlük diyetlerini değiştirmeden günde 7 ml/kg beyaz üzüm (*Vitis labrusca*) suyu tüketmiştir. 30 gün sonunda, üzüm suyu takviyesinin vücut kitle indeksini düşürdüğü ve HDL'yi %16 oranında artırdığı görülmüştür. Üzüm suyu tüketiminin; kan basıncında, kan glukoz, insülin seviyesinde bir değişime neden olmadığı ve oksidatif hasar meydana getirmediği saptanmıştır. Bu sonuçlar, beyaz üzüm tüketiminin metabolik parametreleri iyileştirdiğini ve kardiyovasküler rahatsızlıkları azaltabileceğini göstermektedir. Üzüm ve üzümünden yapılan ürünlerde (şarap, sirke, üzüm suyu gibi) bulunan diğer bir bileşen ise melatonindir. Melatonin; yüksek antioksidan kapasitesinin yanında, bitkileri ağır metallerin etkileri, kuraklık, ultraviyole radyasyon, tuz, soğuk ve sıcak koşullar, patojenler ve herbisitler gibi biyotik ve abiyotik strese koruduğu çeşitli araştırmalar ile belirlenmiştir. Ayrıca melatonin, bazı antioksidan enzimlerin aktivitesini artırmaktadır (Meng vd., 2017). Moreno-Montoro vd.

(2015) tarafından yapılan bir çalışmada, ticari beyaz ve kırmızı üzüm suları fenolik bileşen ve antioksidan aktivitesi bakımından değerlendirilmiştir. Kırmızı üzümde beyaz üzüme göre daha yüksek antioksidan kapasitesi (9,16'ya 2,83 meq Trolox/L), flavanoid (63'e 29 mg kateşin/L) ve toplam fenolik bileşen (1177'ye 744 mg gallik asit/L) saptanmıştır. Yüksek miktardaki fenolik bileşenler ve antioksidan kapasitesi, kırmızı üzüm suyunu diğer meyve sularına (elma, portakal, ananas vb.) göre daha fazla tercih edilir kılmaktadır. Kronik böbrek hastalığı tedavisi gören hastaların 6 ay boyunca fermente olmayan üzüm suyu ile beslenmesi sonucunda, oksidatif DNA hasarında belirgin bir azalma meydana gelmiştir (Corredor vd., 2016).

2.2 Hiren Bitkisi ve Antimikrobiyal Özellikleri

Hiren (*Armoracia rusticana*), *Brassicaceae* familyasının *Armoracia* cinsine ait, çok yıllık bir bitkidir. Hiren, keskin bir tada sahip olmakla birlikte lezzet vermesi için birçok gıdaya baharat olarak katılmakta ve sos şeklinde gastronomi alanında kullanılmaktadır. Ayrıca; idrar yolları enfeksiyonları, akut bronşit ve sinüzit tedavisi, kolon ve akciğer kanser hücrelerinin büyümesini engellemekte de kullanılmaktadır. Bu bitki kuersetin, kaemferol ve askorbik asit gibi biyoaktif bileşenler içermesinin yanında, antibakteriyel, insektisidal ve antifungal etkiler gösteren izotiyosiyanatlar içermektedir. Ayrıca hiren kökü, bulunduğu gıdada, gıda bozulmalarını engellemektedir (Aissani vd., 2013). Hiren kökü büyük ölçüde allil izotiyosiyanat (>%65) ve 2-fenil etil izotiyosiyanat (>%30) içermektedir. Allil izotiyosiyanat çok düşük konsantrasyonlarda bile patojen mikroorganizmalara karşı inhibitif etki göstermektedir (Kim vd., 2015). Hiren kökü genelde sinigrin ve sinigrin türevi allil izotiyosiyanatlardan ve diallilsülfitten oluşan %0,2-1,0 oranında esansiyel yağ içermektedir (Tomsone vd., 2013). Enfeksiyonlara karşı korunmada veya gıda bozulmalarını önlemek amacıyla allil izotiyosiyanat içeren birçok ticari ürün bulunmaktadır (Petrovic vd., 2017). Calabrone vd. (2015), tarafından yapılan çalışmada hiren kökünün ve yaprağının, su ve metanol-su karışımındaki ekstraktlarının fenolik, antioksidan ve antilipaz aktivitesi belirlenmiştir. Hiren kökünde en yüksek fenolik değerleri sırasıyla; metanol-su (50/50), metanol-su (70/30) ve yalnız metanol içeren ekstraktta görülmüştür. Hiren yaprağında ise; en yüksek fenolik değerleri

sırasıyla; metanol-su (70/30), metanol-su (50/50) ve yalnız metanol içeren ekstraktta görülmüştür. Toplam flavanoid içeriğinde ise en yüksek değerler hiren kökünde ve yaprağında metanol su (50/50) ekstraktında görülmüştür. Hiren kökü, yaprağına kıyasla daha fazla antioksidan aktivitesi göstermiş; farklı ekstraktların IC₅₀ değerleri arasında ise belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. Lipaz aktivitesi testi sonuçlarına göre; hiren kökü ve yaprağı arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Her iki örnekte de metanol ve %70'lik metanol ekstraktı, %50'lik metanol ekstraktına göre daha fazla lipaz aktivitesi göstermiştir. Ekstraktların IC₅₀ (lipaz aktivitesini %50 oranında azaltacak konsantrasyon) değerleri 15,96 mg/ml ile 23,66 mg/ml arasında saptanmıştır. Bu çalışmada, obezite tedavisinde hirenin kullanım potansiyeli olduğu fakat ileri *in vivo* çalışmaların yapılmasının gerektiği belirtilmiştir.



Şekil 2.1 Hiren kökü bitkisi (*Armoracia rusticana*)

Hiren ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. Choi vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, hiren ekstraktlarının antifungal etkisini belirlemek amacıyla patojen *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* ve *Epidermophyton floccosum* türleri kullanılarak disk difüzyon yöntemi uygulanmış, 5000 µg/ml konsantrasyondaki ekstrakt bütün türlerde inhibisyon etkisi göstermiştir. Aynı çalışmada hiren ekstraktlarının MİK değerleri *T.rubrum*, *T.mentagrophytes*, *M.canis* ve *E.floccosum* için sırasıyla 200, 200, 100, ve 100 µg/mL olarak saptanmıştır. Choi vd. (2015) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, geleneksel fermente bir ürün olan *Jeotgal*, hiren kökünden ekstrakte edilen isotiyosiyanatlar ile film şeklinde kaplanmış, ürün mikrobiyolojik olarak analiz edilmiştir. 200 mg/ml konsantrasyonda toplam canlı, proteolitik bakteri ve laktik asit bakterilerinde inhibisyon gözlenmiştir. Proteolitik bakterilerin balık ve et gibi

çabuk bozulan gıdalarda protein degradasyonuna yol açtığı bilinmektedir. Çalışmanın sonuçlarına göre hirende bulunan izotiyosiyanatların *Jeotgal* ürününün raf ömrünü uzatabileceği ve özgün bir tat ve aroma oluşturacağı belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada, 69 farklı bitki ekstraktının *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı çoğunluk algılama inhibitörü (quorum sensing) olarak etkisi araştırılmış, çalışılan ekstraktlar içerisinde en yüksek inhibisyon hiren ekstraktında saptanmıştır (Jakobsen vd., 2012). Istrati vd. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, hiren ekstraktı ile marine edilmiş etlerde *B.cereus* ve *B.subtilis*'e karşı antimikrobiyal etki gözlenmiştir. *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *S. epidermidis* (ATCC 12228), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Salmonella abony* (NCTC6017) ve *Candida albicans* (ATCC 10231)'a karşı hiren ekstraktının antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi amacıyla MİK testi yapılmış, bütün suşlarda antimikrobiyal etki görülmüş, bakteri suşları için MİK değerleri 265-795 µg/mL ve *C. albicans* için 48-192 µg/mL arasında bulunmuştur. Hiren ekstraktındaki geniş antimikrobiyal etki, büyük oranda içerdiği allil izotiyosiyanatlar, 2- feniletıl izotiyosiyanatlar ve diğer minör bileşenler (3-bütenil ve benzil izotiyosiyanat ve alliltiyosiyanat) ile ilişkilendirilmiştir. Antibakteriyel aktivitenin dayandığı mekanizmalar; enzimlerin S-S köprülerinin yıkılması, ATP sentezini engelleme, oksidatif stres aracılı DNA hasarı, hücre üremesinin ve proliferasyon düzenleyicilerin engellenmesidir (Petrovic vd., 2017). Hirenden ekstrakte edilen izotiyosiyanatların (ITC) 27 farklı *P. aeruginosa* izolatına karşı antimikrobiyal etkisi MİK testi ile incelenmiş, allil izotiyosiyanat (AITC), benzil izotiyosiyanat (BETC) ve fenil izotiyosiyanat (PEITC) için MİK değerleri sırası ile 103, 2145 ve 29,423 µg/mL ve bu ITC'lerin karışımında (ITCM) ise 140 µg/mL olarak saptanmıştır. Ayrıca, bu suşların oluşturduğu biyofilmlere karşı da antimikrobiyal etki incelenmiş, 50 µg/mL AITC ve 500 µg/mL BETC antimikrobiyal etki göstermezken, 500 µg/mL PEITC ve 100 µg/mL ITCM biyofilm oluşumunda önemli bir azalma meydana getirmiştir. Bu çalışmada, ITC'ların hem biyofilm oluşumunu engellemede hem de biyofilmin etkinliğini azaltmada etkili olduğu saptanmıştır (Kaiser vd., 2017). Tedeschi vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, sivrisinek (*Aedes albopictus*) larvasına ve bazı patojen funguslara karşı hiren etanol ekstraktının antifungal ve insektisidal etkisi

araştırılmıştır. Hiren ekstraktı; *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum* ve *F.culmorum*'a karşı antifungal etki gösterirken, *Trichoderma longibrachiatum* ve *Botrytis cinerea*'nın inhibisyonunda hiçbir etki göstermemiştir. Hiren ekstraktı *A. albopictus* üzerinde %80 düzeyinde azalmaya sebep olmuştur. Aynı çalışmada, hiren ekstraktı ve sarımsak ekstraktının insektisidal etkileri de karşılaştırılmış, hiren ekstraktı ($LC_{50}= 2,34$ g/L) sarımsak ekstraktına ($LC_{50}= 4,50$ g/L) göre iki kat daha fazla insektisidal etki göstermiştir (LC_{50} böceklerin yarısını öldürecek konsantrasyonu ifade etmektedir). Çalışmada hirenin sentetik pestisitlere alternatif oluşturma potansiyelinin olduğu vurgulanmıştır.

Farklı konsantrasyonlardaki hiren ITC'lerinin, tofunun mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerine etkisi araştırılmıştır. 25, 50, 100, 200 ve 300 ppm ITC tofu içeren paketlere enjekte edilmiş, 10 gün boyunca fizikokimyasal değişimler incelenmiştir. 300 ppm ITC içeren tofu diğer konsantrasyonlardan daha etkili bulunmuştur. Bu örnekte 10 günlük depolama süresi sonunda başlangıç pH 6,50 değeri artarak 6,67 değerine yükselmiştir. Kontrol örneği ve 25, 50, 100 ve 200 ppm ITC içeren tofu örneklerinde ise başlangıç pH'ı 6,18'den 5,88-6,00 değerlerine azalmıştır. Kontrol örneği depolama sonunda belirgin derecede yüksek asitlik değeri göstermiştir. Duyusal analiz sonuçlarında ise ITC içeren örnek kontrole kıyasla daha yüksek puan almıştır. ITC'ların, tofunun raf ömrünü geliştirmede kullanılabileceği vurgulanmıştır (Shin vd., 2010). Hiren ekstraktı kaplı plastik filmler kullanılarak domuz ve balık etinde oksidasyonun azaltılması araştırılmıştır. Normal plastik filmle kaplı örneklere göre, hiren ekstraktı kaplı örneklerde 9 günlük depolama süresi boyunca daha düşük a^* (kırmızılık indeksi) ve b^* (sarılık indeksi) değerleri gözlenmiştir. Ayrıca kontrol örneğinde b^* değeri sürekli bir artış gösterirken, hiren ekstraktı kaplı örneklerde azalma veya sabit kalma yönünde bir eğilim göstermiştir. Örneklerin peroksit değerleri depolama süresince kontrol örneğinde hızlı bir artış gösterirken (3,57'den 11,72 meq/kg), hiren ekstraktı içeren örneklerde de artış görülmüş fakat kontrole göre çok az bir artış meydana gelmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, hiren ekstraktının domuz ve balık etinde renk kayıplarını ve lipit oksidasyonunu önleme amacıyla kullanım potansiyeli olduğu görülmektedir (Jung vd., 2009).

Dekic vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada hirenin otoliz ürünü olan 5-fenilpentil izotiyosiyanatın antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitesi araştırılmıştır. Bu amaçla; *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. enterica*, *P. vulgaris*, *E. coli*, *C. albicans* ve *A. brasiliensis* türleri kullanılmıştır. Belirtilen türlerin MİK değerleri 0,03 ile 2,50 mg/ml aralığından saptanmıştır. *B. cereus* ve *P. vulgaris* en hassas türler olarak saptanırken, *C. albicans* ve *B. subtilis* ise en dirençli türler olarak belirlenmiştir. Sitotoksik etkinin belirlenmesi amacı ile Caco-2, HeLa ve MDCK hücreleri kullanılmış, izosiyonatlar bütün hücrelerde sitotoksik etki göstermiştir.

2.3 Probiyotikler, Bitkisel Gıdalarda Kullanımı ve Probiyotiklerin Canlılığını Etkileyen Faktörler

2.3.1 Probiyotikler ve probiyotiklerin bitkisel gıdalarda kullanımı

Probiyotikler “belirli miktarda tüketildiğinde konakçının sağlığında olumlu etkiler gösteren canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanmaktadır (FAO/WHO, 2002). Probiyotiklerin gıdada minimum 10^6 kob/ml düzeyinde bulunması, tüketicinin sağlığına olumlu etki gösterebilmesi için vücuda günlük olarak minimum 10^8 - 10^{10} kob/ml düzeyinde alınması gerekmektedir (Kechagia vd., 2013). Probiyotiklerin yalnızca vücuda alınması değil, vücuda alındıktan sonra ince bağırsağa kadar canlı halde ulaşması gerekmektedir (Champagne ve Gardner, 2008). Larsen vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada, probiyotik *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* ve *Lactobacillus paracasei*'nin farklı dozlarda alınmasının kan kolesterol seviyesi ve fekal mikrofloraya etkileri araştırılmıştır. Deney grupları 2 hafta boyunca 10^8 , 10^9 , 10^{10} ve 10^{11} kob/ml düzeylerinde probiyotik takviyesi tüketmiş, sonuçlar kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır. Probiyotik tüketen grupta kontrol grubuna kıyasla daha yüksek HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) ve daha düşük LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) değerleri saptanmıştır. *B.lactis* tüketen grupta, tüketim düzeyi arttıkça *B.lactis*'in geri sindiriminin daha fazla olduğu gözlenmiş, *L.paracasei* tüketen grupta ise kontrol grubu ile fekal mikroflora bakımından fark görülmemiştir. Probiyotik mikroorganizmalar büyük çoğunlukla *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerini kapsamaktadır (Fijan, 2014). Yaygın olarak kullanılan probiyotikler Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1 Yaygın olarak kullanılan probiyotikler (Kandyliş vd., 2016).

<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Bifidobacterium</i> spp.	Diğerleri
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. longum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>L. amylovarus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. breve</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Leuconostoc</i> spp.
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. animalis</i>	
<i>L. helveticus</i>		
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>		
<i>L. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>		
<i>L. casei</i>		
<i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>		
<i>L. paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>		
<i>L. plantarum</i>		
<i>L. rhamnosus</i>		
<i>L. fermentum</i>		
<i>L. reuteri</i>		

Probiyotiklerin mide asidine ve safraya dirençli olması, bağırsak epitel hücrelerine tutunma, bağırsakta kolonize olabilme ve antimikrobiyal madde üretme yeteneği yanında patojen mikroorganizmaların yüzeye tutunmasını inhibe etme gibi özellikleri de bulunmaktadır (FAO/WHO, 2002). Probiyotiklerin gıda içerisinde yer alabilmesi için patojenite ve virülans özelliği olmamalı, gıdanın depolama süresi boyunca belirtilen düzeyde canlılığını sürdürmeli ve gıdanın duyuşsal özelliklerini olumsuz etkilememelidir (Prado vd., 2008). Probiyotik bir ürün oluşturmak için uygun probiyotik suşun ve uygulanacak dozun seçimi önem arz etmektedir. Üretim, depolama ve intestinal sistemde canlılığın korunması probiyotik suşun seçiminde birincil önem arz eden özelliklerdir. *Lactobacillus* türleri, *Bifidobacterium* türlerine kıyasla düşük pH koşullarına daha dayanıklıdır ve ortam koşullarına daha iyi adaptasyon göstermektedir. *Bifidobacterium* spp. ile karşılaştırıldığında *Lactobacillus* türlerinin probiyotik gıda uygulamalarında kullanılmak için daha uygun görülmektedir (Tripathi ve Giri, 2014).

Probiyotik içeren gıdaların büyük kısmı süt ürünlerinden oluşmaktadır. Probiyotik meyve suyu gibi süt kaynaklı olmayan gıdalar, vejeteryan yada süt ürünlerine karşı intoleransı olan tüketiciler için bir alternatif oluşturmaktadır (Kalita vd., 2018). Meyve suları, içerdiği vitamin, mineral, antioksidan ve polifenol gibi yararlı bileşenlerin yanında, probiyotiklerin gelişimi ve canlılığını sürdürmesi için de birçok avantaj sağlamaktadır. İçerdiği şeker ve diğer besin öğeleri probiyotiklerin gelişimi için önemlidir. Ayrıca meyve suları her yaş ve kesimden tüketiciye hitap eden bir lezzet profili içermektedir. Bu özellikler, meyve sularında ve meyve bazlı ürünlerde probiyotiklerin kullanımının yaygınlaşmasını sağlamaktadır (Kandylyis vd., 2016).

Günümüzde, probiyotik içeren meyve ve sebze bazlı ürünlerin üretimi ve bu konudaki akademik çalışmalar da artış göstermektedir. Son beş yıl içinde probiyotik meyve suları ile ilgili 100'den fazla makale ve 46 adet patent yayınlanmıştır (Filho vd., 2017). Meyve sularının probiyotiklerle zenginleştirilmesi ile ilgili birçok akademik çalışma bulunmakta, bu çalışmalardan çıkan sonuçlar incelendiğinde meyve suları ve meyve bazlı ürünlerin probiyotiklerin gelişimi ve canlılığını sürdürmesi için uygun bir gıda ortamı olduğu anlaşılmaktadır (Betoret vd., 2003; Sheehan vd., 2007; Champagne vd.,

2008; Rodrigues vd., 2012; Antunes vd., 2013; Mohan vd., 2013). Probiyotiklerin, sağlığa olumlu etkilerinin yanında, zararlı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkiler gösterdiği bazı çalışmalar ile tespit edilmiştir.

Farias vd. (2016), tarafından yapılan çalışmada, çarkifelek meyvesi (*P. cincinnata*) suyunda *L. rhamnosus*'un gelişimi araştırılmıştır. Kullanılan kültür, % 0,1, 1 ve 5 (v/v) olmak üzere üç farklı oranda meyve suyuna ilave edilmiş ve meyve suyu 37°C'de fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyon süresi sonunda meyve suları 4°C'de depolamaya bırakılmış, 28 gün boyunca 7 günde bir analiz edilmiştir. En yüksek *L. rhamnosus* gelişimi %1 inokulum içeren örnekte görülmüştür. En yüksek toplam indirgen şeker ise %5 inokulum içeren örnekte görülmüştür. 28 günlük depolama süresi sonunda *L. rhamnosus* sayısı 8 log kob/ml'den daha fazla saptanmıştır. Costa vd. (2017), tarafından yapılan çalışmada, oligofruktoz ve askorbik asidin portakal suyundaki *L. paracasei*'nin canlılığına, fizikokimyasal ve duyuasal özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Oligofruktoz veya askorbik asit ilavesi *L. paracasei* sayısında istatistiksel açıdan bir fark oluşturmamıştır. Aynı zamanda portakal suyunun duyuasal kabul edilebilirliğinde de anlamlı bir fark meydana getirmemiştir. *L. paracasei* soğuk depolamanın sonuna kadar (28 gün) canlılığını sürdürmüştür. Portakal suyunun, *L. paracasei* gelişimi için uygun bir gıda ortamı olduğu anlaşılmaktadır. Nematollahi vd. (2016), tarafından yapılan çalışmada, pH 3,5 değerine ayarlanan kıvılcık suyunda İran'a özgü probiyotik suş *L. casei* T4'ün canlılığı araştırılmış ve ticari *L. plantarum*, *L. casei* ve *L. rhamnosus* suşlarının canlılığı ile karşılaştırılmıştır. T4 suşunun diğer ticari suşlara kıyasla meyve suyunda daha uzun süre canlılığını koruduğu belirlenmiştir. *L. rhamnosus* sayısı soğuk depolamanın 20. gününde belirleme limitinin altına düşmüştür. Depolamanın 30. gününde *L. plantarum* ve *L. casei* sayıları sırasıyla 2 log ve 5 log değerlerine düşerken, *L. casei* T4 suşu ise başlangıç inokulum miktarı olan 8 log kob/ml değerini korumuştur. Kıvılcık meyvesinin doğal pH değeri olan 2,6'da ise ticari suş sayıları başlangıçtan itibaren doğrusal bir şekilde azalma göstermiş ve 2. ve 4. günde canlılıklarını kaybetmiş, *L. casei* T4 suşu ise 4. güne kadar 8 log düzeyinde kalmıştır. pH 2,6 değerinin probiyotik suşların gelişimi için uygun olmadığı, pH 3,5 değerinin ise duyuasal özelliklerde bir değişim meydana getirmeden probiyotik canlılığını korumak için uygun olduğu belirlenmiştir.

Probiyotik özellikli elma dilimi üretmek amacı ile, elma dilimleri *S. cerevisiae* veya *L. casei* (spp. *rhamnosus*) içeren ticari elma suyuna daldırılmıştır. Suşların stabilitesini arttırmak amacıyla elma dilimleri 40°C'de hava ile kurutulmuştur. Kurutulmuş ve depolanmış üründe *L. casei* sayısı analiz edilmiş ve 10⁶ kob/ml'den fazla olarak saptanmıştır. Daldırma ve kurutma tekniğinin probiyotik meyve kurusu üretimi için uygun bir yöntem olduğu belirlenmiştir (Betoret vd., 2003).

Röfle vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada *L. rhamnosus* GG-LGG suşu, taze elma dilimlerine inoküle edilmiş, suşun stabilitesi analiz edilmiştir. Duyusal analiz parametreleri ve fizikokimyasal analizler de tayin edilmiş, probiyotik elma dilimlerinin kalitesi belirlenmiştir. Soyulup dilimlenen elma dilimleri 10¹⁰ kob/ml *L. rhamnosus* içeren çözeltiye daldırılmış, 0, 2, 4, 6, 8 ve 10. günlerde *L. rhamnosus* sayısı belirlenmiştir. *L. rhamnosus* GG-LGG suşunun 10 gün boyunca 10⁸ kob/ml değerlerinde kaldığı gözlenmiştir. Duyusal analizde örnekler beğeni skalasına göre 0-6 arasında numaralandırılmış, kontrol örneği ve probiyotik örnek sırası ile 4,25 ve 4,20 değerlerinde puanlanmıştır. İki örnek arasında genel beğeni bakımından istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir ($P>0.05$). Probiyotik elma dilimlerinin süt ürünleri alerjisi olan kişilerin tüketimi için alternatif bir ürün olabileceği belirtilmiş, probiyotiğin stabilitesinin artırılması için mikroenkapsülasyon çalışmalarının arttırılabileceğine vurgu yapılmıştır.

Perricone vd. (2014), tarafından yapılan çalışmada, *L. reuteri* DSM 20016'nın ticari elma (pH 3.14), ananas (pH: 3.40), portakal (pH: 3.56) ve kırmızı meyve suyunda (kırmızı portakal, nar ve yabanmersini karışımı, pH: 2.97) canlılığı araştırılmıştır. Ananas, portakal ve elma suyunda suşun canlılığı, kırmızı meyve suyuna göre daha fazla korunmuştur. *L. reuteri*'nin duyusal kabul edilebilirlikte olumsuz bir etki oluşturmadığı belirlenmiştir. Pereira vd. (2011), tarafından yapılan çalışmada, kaju meyvesi suyu *Lactobacillus casei* NRRL B-442 suşu kullanılarak fermente edilmiştir. Fermentasyon parametreleri optimize edilmiş, en uygun koşulların başlangıç pH'sının 6.4, sıcaklığın 30°C, başlangıç inokulumunun 7.48 log kob/ml ve 16 saatlik fermentasyon süresi olduğu belirlenmiştir. 42 günlük soğuk depolama boyunca *L. casei* sayısı 8 log kob/ml düzeylerinde tespit edilmiştir. Fermentasyon ve depolama boyunca ürünün sarılık,

parlaklık ve toplam renk değişiminde artış gözlenirken; kırmızılık değerinde azalma meydana gelmiştir. *L. casei*'nin kaju meyvesi suyunun duyuşal özelliklerini değiştirmeden, canlılığını uzun süre koruyabildiği sonucu elde edilmiştir. Dias vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada, probiyotik çarkıfelek meyvesi suyu tozu üretilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, *B. lactis* BB-12 suşu maltodekstrin veya inülin kullanılarak mikroenkapsüle şekilde meyve suyuna eklenmiştir. 30 günlük depolama boyunca 4°C ve 25°C'de suşun canlılığı incelenmiş, 4°C'nin daha etkili probiyotik canlılık sağladığı belirlenmiştir. 25°C'lik depolamada, inülinin maltodekstrine kıyasla daha iyi bir prebiyotik etki sağladığı saptanmıştır. Renuka vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada ananas, mango ve portakal suyunun fruktooligosakkarit (FOS) ile zenginleştirilmesinin, ürünlerin kalite özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre FOS'in 6 aylık depolama süresi boyunca ürünün kalitesini, pH, titrasyon asitliği, toplam çözünmüş katı madde ve renk değerlerini değiştirmedeği belirlenmiştir.

Luckow ve Delahunty (2004) tarafından yapılan çalışmada, *L. plantarum* içeren kuşüzümü suyu duyuşal olarak analiz edilmiştir. Probiyotik olan üründe süt ürünü tadı ve ekşi bir aroma saptandığı belirlenmiştir. Ancak duyuşal test sonuçlarında tüketicilerin probiyotik olan ürünü faydaları bakımından tercih ettiği belirlenmiştir. Tüketicilerin yaşı arttıkça probiyotik tercihin daha fazla olduğu görülmüş, bunun ise yaş aldıkça insanda kimyasal hassasiyetin azalmasından kaynaklı olabileceği belirtilmiştir. Genel anlamda, tüketiciler sağlığa olumlu etkiler gösteren ve genel beğeni olarak kabul edilebilir olan ürünü tercih etmiştir. *B. lactis* Bb-12, *B. bifidum* B7.1 ve B3.2 suşları kullanılarak havuç suyu fermente edilmiş, seçilen suşların ilave besin ögesi olmadan havuç suyunda gelişebildiği görülmüştür. Başlangıçta 10⁷ kob/ml olan mikrobiyal yükün 6 saatlik inkübasyon sonunda 10⁸ kob/ml değerine yükseldiği ve 24 saatlik fermentasyon sonuna kadar bu değerde kaldığı belirlenmiştir. Fermentasyon boyunca glukozun %20, sükrözün ise %10 oranında kullanıldığı saptanmıştır. Fruktoz miktarında değişim görülmemiş, bu sonuç, fruktozun Bifidobacteria için uygun bir karbon kaynağı olmadığını göstermektedir. Fermentasyon boyunca 15-17 mg/ml arasında laktik asit miktarı saptanırken, asetik asit miktarı ise yalnızca 3,3-5,3 mg/ml arasında saptanmıştır. Fermentasyon boyunca az miktarda etanol üretimi de gözlenmiş (1,11-1,89 mM), karotenoidler ise suşların kullanımına bağlı olarak %15-45

oranında azalma göstermiştir (Kun vd., 2008). Yoon vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada lahana suyu *Lactobacillus plantarum* C3, *Lactobacillus casei* A4 ve *Lactobacillus delbrueckii* D7 suşları kullanılarak fermente edilmiş, üç suş da lahana suyunda başarılı bir şekilde gelişme göstermiş, 48 saat sonunda 10^8 kob/ml sayısında oldukları belirlenmiştir. 72 saat sonunda örneklerin pH değerleri 3,4-3,6 arasında saptanmıştır. 4 haftalık 4°C 'lik depolama sonunda ise *L. plantarum* ve *L. delbrueckii* sırası ile 10^7 ve 10^5 kob/ml değerinde saptanırken, *L. casei* 2 hafta sonunda bu pH değerlerinde canlılığını sürdürememiştir.

2.3.2 Probiyotiklerin canlılığını etkileyen faktörler

Probiyotiklerin canlılığı birçok iç ve dış faktörden etkilenmektedir. Bunlar temelde; sıcaklık, pH, oksijen miktarı ve besin maddeleri olarak sayılabilir. Malganji vd. (2016), pastörize üzüm suyuna üç farklı *Lactobacillus* spp. inoküle etmiş, 4 hafta boyunca 4°C 'lik depolama koşullarında üç türün canlılığını incelemiştir. *L. rhamnosus* ve *L. delbrueckii*, *L. plantarum*'a göre canlılığını daha fazla koruyabilmiş, 4 hafta sonunda üründeki sayılar sırası ile 8,3, 7,7 ve 6,9 log kob/ml olarak saptanmıştır. Bu çalışmada, soğuk depolama sırasında önemli miktarda probiyotik kaybı olmadığı görülmektedir. Aynı çalışmanın duyu testlerinde en yüksek kabul edilebilirlik *L. rhamnosus* içeren üründe görülmüştür. Yoon vd. (2004), pastörize domates suyuna probiyotik özellikteki *Lactobacillus acidophilus* LA39, *Lactobacillus casei* A4, *Lactobacillus delbrueckii* D7 ve *Lactobacillus plantarum* C3 suşlarını inoküle etmiş, domates suları 30°C 'de 72 saat fermente edilmiştir. Ardından 4°C 'de 4 hafta depolamaya bırakılmış, domates sularındaki probiyotiklerin sayımı yapılmıştır. Depolama süresi sonunda bütün örneklerde probiyotik sayıları 10^6 kob/ml'den yüksek bulunmuş, *L. acidophilus* ve *L. delbrueckii* sayıları depolama boyunca azalma göstermemiş ve sırasıyla 10^9 ve 10^8 kob/ml olarak saptanmıştır. Fermentasyon sonucu domates suyunun pH 3,5'e kadar düştüğü halde probiyotikler depolama boyunca gıda içerisinde canlılığını korumuştur. Lupien-Meilleur vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, akçaağaç içeceğine *L. rhamnosus*, *L. helveticus*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* suşları 10^8 ve 10^{10} kob/ml dozlarında farklı kombinasyonlar şeklinde inoküle edilmiş, 84 günlük depolama süresince kültürlerin canlılığı incelenmiştir. Kombinasyonlar arasında probiyotik sayısı bakımından anlamlı bir fark

görülmemiş, depolama süresi sonunda sayıların 4-6 log düzeylerinde olduğu gözlenmiştir. *Lactobacillus casei* NRRL B-442 suşu emdirilmiş elma dilimleri 10°C, 40°C ve 60°C sıcaklıklarda ultrasonik ve geleneksel kurutma işlemine maruz bırakılmış, ardından suşun canlılığı incelenmiştir. Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı $8.5 \pm 0,5$ log kob/ml olarak belirlenmiştir. *L. casei* ısıya duyarlı bir mikroorganizma olduğundan, türün canlılığı ısıl işlem ve işlemin uygulanma süresi ile doğrudan bağlantılıdır. Ultrasonik kurutma işlemi ile, geleneksel kurutmaya göre suş canlılığı daha yüksek oranda korunmuştur. 60°C'de kurutma ile, 10°C ve 40°C'deki kurutma işlemine göre, her iki kurutma yönteminde de mikroorganizma canlılığı daha fazla korunmuştur. 60°C geleneksel kurutmada başlangıç mikroorganizma sayısında canlı kalma oranı %70 iken, ultrasonik kurutmada %80'den fazla canlı kalma saptanmıştır. 60°C ultrasonik kurutma işleminden sonra elma dilimlerindeki son mikroorganizma sayısı 10^6 kob/ml olarak saptanmıştır. Bu sonuç ile, probiyotik içeren süspansiyon inoküle edilmiş elma dilimlerinde ultrasonik kurutma işleminin probiyotik canlılığını yüksek sayıda koruduğu saptanmıştır (Rodrigues vd., 2018). Nualkaekul vd. (2011), *Bifidobacterium longum* NCIMB 8809 suşunun 6 hafta boyunca model çözelti içindeki *in vitro* canlılığını araştırmıştır. Model çözelti 50 g/l sükröz, 25 g/l glukoz, 25 g/l fruktoz ve değişen miktarlarda sitrik asit (2-15 g/l), protein (0-10 g/l) ve diyet lifi (0-8 g/l pektin) olacak şekilde pH 3,2-4 aralığında 31 çözelti hazırlanmıştır. Çözeltilerin başlangıç mikroorganizma yükü 10^8 kob/ml olacak şekilde, 31 adet çözeltiliye kültür inoküle edilmiş, 6 hafta boyunca 4°C'de analiz edilmek üzere depolanmıştır. pH'ı 3,2 gibi çok düşük olan örneklerde hücre konsantrasyonu ilk haftadan itibaren azalma göstermiştir. Yüksek pH değeri ve yüksek miktarda sitrik asit, protein ve diyet lifi içeren örneklerde daha fazla canlılık görülmüştür. De Bellis vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada, farklı tuz konsantrasyonlarındaki zeytin salamurasına probiyotik *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 suşu inoküle edilmiştir. Fermentasyonun 1, 10, 20, 30 ve 90. Gününde zeytinler analiz edilmiştir. Kullanılan suş zeytindeki doğal laktik asit bakterisi (LAB) popülasyonunu domine etmiş ve zeytin yüzeyine başarılı bir şekilde gelişmiştir. 30 günlük fermentasyon sonunda salamuranın pH değeri 5'e düşmüş ve 90 günlük depolama süresi boyunca bu değerde kalmıştır. Bu çalışma ile, yüksek kalitede ve probiyotik özellikte zeytin üretiminde *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 suşunun uygun özellikte olduğu anlaşılmıştır. Aynı çalışmada,

salamurada baskın olarak tanımlanan türler; *Lactobacillus coryniformis*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. pentosus*, *L. rhamnosus*, *L. brevis*, *L. mali*, *L. vaccinoferus*, *L. casei*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuc. pseudomesenteroides*, *Lactococcus lactis*, *Weissella paramesenteroides*, *W. cibaria*, *Enterococcus casseliflavus* ve *E. italicus* olarak belirlenmiş ve *L. pentosus* en fazla izole edilen tür olmuştur. Oh vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada yabanmersini meyvesi, probiyotik *Bacillus amyloliquefaciens* ve *Lactobacillus brevis* bakterileri ve *Starterella bombicola* mayası ile fermente edilmiştir. 96 saatlik fermentasyon sonunda ürünün antioksidan, antibakteriyel ve toplam fenolik bileşen değerleri ölçülmüştür. Kullanılan üç türün de fermentasyon sonuna kadar canlılığını koruduğu belirlenmiştir. Probiyotik içeren örneklerin, kontrol örneğine göre çok daha fazla serbest radikal temizleme aktivitesi olduğu görülmüştür. Diğer bir çalışmada, *Lactobacillus rhamnosus* R0011 suşu elma-armut-ahududu karışımı meyve suyuna $4,5 \times 10^9$ kob/250 ml düzeyinde inoküle edilmiştir. Probiyotik inoküle edildikten sonra ticari meyve suları 2 hafta ve 4 hafta bekletilmiştir. 5 hafta boyunca 7°C'de depolanan örnekler her hafta analiz edilmiştir. 5 haftalık depolama sonunda suşun canlılığının %75 oranında azaldığı gözlenmiştir. *L. rhamnosus* canlılığı bakımından 2 ve 4 hafta olgunlaştırılan örneklerde istatistiksel açıdan bir fark görülmemiştir. Örneklerin pH değerleri 3,63 ve 3,90 arasında saptanmıştır. Kontrol ve probiyotik içeren örneklerdeki pH değerleri 0.1 değerinde farklılık göstermiştir. *Lactobacillus rhamnosus*'un varlığı pH değerinde istatistiksel olarak bir fark oluşturmamıştır (Champagne vd., 2008).

Alves vd. (2016), tarafından yapılan çalışmada ticari portakal suyuna *L. casei* inoküle edilmiş, 30°C'de 20 saat inkübe edilmiştir. Ardından probiyotik portakal suyu sprey kurutma ve akışkan yatak yöntemi ile farklı parametrelerde kurutmaya tabi tutulmuştur. Kurutma işleminden sonra probiyotik sayısının 0.25 ile 4,75 log arasında azalma gösterdiği görülmüştür. Akışkan yatak ile kurutmanın sprey kurutmaya göre probiyotik canlılığını korumada daha etkili olduğu saptanmıştır. Alves vd. (2017) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, probiyotik *L. casei* NRRL B-442 içeren portakal suyu akışkan yataklı kurutucuda 60, 70, 80 ve 90°C'de kurutulmuş, düşük sıcaklığın mikroorganizmanın canlılığını sürdürmesi için daha uygun olduğu belirlenmiştir. Depolama süresi boyunca yüksek sıcaklığın (80°C ve 90°C) mikroorganizma sayısını olumsuz etkilediği

belirtilmiş, fakat 60°C'de kurutulduğunda ise ürünün daha yüksek a_w değerine sahip olduğu saptanmış, bu da probiyotiklerin canlı kalmasını olumsuz etkilemiştir. *L. casei* NRRL B-442 suşu için en uygun kurutma sıcaklığının 70°C olduğu belirlenmiştir. Chavez ve Ledebøer (2007), tarafından yapılan çalışmada, farklı kurutma yöntemlerinin farklı sıcaklıklarda uygulanmasının probiyotik *Bifidobacterium lactis* BB12 suşunun canlılığına etkisi incelenmiştir. Probiyotiklerin canlılığını desteklemek amacıyla ortama ağırlıkça %20 oranında gam, soya proteini ve maltodekstrinin farklı kombinasyonlarda karışımları eklenmiştir. Sprey kurutma ve vakum kurutma yöntemleri kombine edilmiş, probiyotikler 3 aylık periyot boyunca 30°C'de canlılığını sürdürmüştür.

Rascon vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada, muz dilimleri 10^9 kob/g düzeyinde *L. rhamnosus* LC705 ve %50 (g/g) sükröz içeren hipertonic çözelti içerisine daldırılmıştır. Muz dilimleri daha sonra -85°C, 1 Pa'da 72 saat boyunca kurutmaya tabi tutulmuştur. Muz dilimlerindeki başlangıç mikrobiyal yük 10 log olarak ölçülürken, 6 saat sonunda 9,40 log değerine düşmüştür. Aynı çalışmada su aktivitesinin, *L. rhamnosus*'un canlılığına etkisi incelenmiş, 42 gün boyunca farklı a_w değerlerinde *L. rhamnosus* suşunun canlılığı incelenmiş, bu periyot sonunda *L. rhamnosus* sayısının 2-5 log arasında olduğu belirlenmiştir. Su aktivitesi arttıkça canlılığının azaldığı görülmüştür. 0.327'den daha yüksek su aktivitesi değerlerinde suşun canlılığının daha hızlı şekilde azaldığı saptanmıştır. Bu değer suş için kritik değer olduğu belirlenmiştir.

Probiyotiklerin gıdada canlılığını uzun süre koruyabilmesi birçok faktöre bağlıdır. Probiyotikleri olumsuz ortam koşullarından korumak amacı ile enkapsülasyon yöntemi kullanılmaktadır. Ayrıca prebiyotikler de probiyotiklerin gelişimini destekleyici elementler olarak probiyotik içeren gıda ortamına eklenmektedir.

2.3.2.1 Enkapsülasyon

Probiyotiklerin gelişimi için ortamın pH değeri belirli düzeyde olmalıdır. Asitliği yüksek ortamlarda probiyotik kültürün gelişimi azalmaktadır. Bu nedenle, kültürün çeşitli polimerlerle kaplanarak gıdaya ilave edilmesi şeklinde tanımlanan

enkapsülasyon teknolojisi geliştirilmiştir (Antunes et al., 2013). Enkapsülasyon, katı sıvı ya da gaz materyallerin spesifik koşullar altında içlerindeki bileşenlerin salınmasına izin verecek biçimde, kapsül şeklinde paketlenmesi işlemidir (Anal ve Singh, 2007). Mikroenkapsülasyon teknolojisi probiyotiklerin gelişimi için anaerobik ortam koşulları sağlamak ve hassas türler için fiziksel bariyer oluşturmaktadır (Antunes et al., 2013). Bu amaçla ekstrüzyon, emülsiyon, sprey kurutma gibi farklı işlemler kullanılabilir (Kavitake et al., 2017). Antunes vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, açerola meyvesinin nektarına mikroenkapsüle halde *B. animalis* subsp *lactis* BB-12 suşu inoküle edilmiş ve nektar içinde suşun canlılığı incelenmiştir. 35 günlük depolama sonunda enkapsüle haldeki suş içeren örnekte, serbest haldeki suş içeren örneğe göre 2 log daha fazla *B. animalis* olduğu belirlenmiştir.

Nualkaeul vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada *L. plantarum* NCIMB 8826 suşu 3×10^8 kob/ml düzeyinde kitosan ile kaplanmış şekilde nar suyuna ve ayrıca gastrik çözeltiye inoküle edilmiş, 37°C'de inkübe edilmiştir. Başlangıç anından itibaren 4 saat boyunca saat başı gastrik çözeltilerden bir miktar alınmış ve çözeltilerdeki *L. plantarum* sayısı belirlenmiştir. Nar suyu ise 6 hafta boyunca 4°C'de depolanmıştır. *L. plantarum* gastrik çözeltilerde serbest halde ilk haftadan itibaren canlılığını kaybederken, kitosan kaplı örneklerde 3,8-5,2 log kob/ml arasında canlı hücre saptanmıştır. Kitosan tek ve çift tabaka olarak iki şekilde kaplanmış, çift tabakalı olan örnekte *L. plantarum*'un canlılığını daha fazla sürdürdüğü belirlenmiştir. Nar suyu örneğinde ise *L. plantarum* kontrol örneğinde 4. haftada canlılığını kaybederken, kitosan kaplı örneklerde 5,7-6,6 log birim düzeyinde canlılığını sürdürmüştür. Kitosan kaplı örneklerde *L. plantarum*'un başlangıç değerinden 2-2,9 log arası azalma olduğu görülmüştür. Örneklerin pH değeri incelendiğinde, nar sularında son pH 3,20-3,63 arasında, gastrik çözeltilerde ise 1,58-1,78 arasında saptanmıştır. Kitosan kaplamanın *L. plantarum*'u gastrik çözeltinin çok düşük pH değerlerinden koruduğu anlaşılmaktadır.

Darjani vd. (2016), tarafından yapılan çalışmada gastrik çözelti içindeki *L. casei*'nin stabilitesine inülinin, kitosan kaplı aljinat mikrokapsülü ve kitosan kaplı olmayan aljinatın etkisi araştırılmıştır. Kitosan kaplamanın en iyi canlılığı sağladığı saptanmış, *L. casei* sayısında yalnızca 2,7-2,9 log birim azalma

görülmüştür. Kitosan kaplamalı olmayan aljinat tanelerinin gastrik çözeltide 30-60 dk içerisinde parçalandığı gözlenmiştir.

2.3.2.2 Prebiyotikler

Prebiyotikler, probiyotik mikroorganizmaların gelişimini stimüle eden sindirilmeyen besin öğeleridir. Meyve, sebze ve tahıllar iyi birer prebiyotik kaynağıdır (Antunes et al., 2013). Nazzaro et al., (2008) tarafından yapılan çalışmada, *L. bulgaricus* ve *L. rhamnosus* ile fermente edilen havuç suyundaki probiyotik canlılığına inülin veya FOS'in etkisi araştırılmıştır. Her iki tür de 48 saat sonunda 5×10^9 kob/ml düzeyine ulaşmış, 4 haftalık depolama sonunda probiyotik sayısı 3×10^9 kob/ml düzeylerinde görülmüştür. Başlangıçtaki (pH 4,8-4,9) pH değeri ise 4 hafta sonunda pH 3,5-3,7 değerlerinde saptanmıştır.

Bifidobacterium breve 46, *Bifidobacterium lactis* 8:8 ve *Bifidobacterium longum* 6:18 suşlarının ve üç referans suşun; *B. breve* CCUG 24611, *B. lactis* JCM 10602, ve *Bifidobacterium pseudocatenulatum* JCM 1200 asit ve safra toleransı, prebiyotik kullanımı ve 4 adet *C. difficile* suşuna karşı antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Bütün suşların *C. difficile* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Safra çözeltisi içerisinde *Bifidobacterium longum* 6:18 hariç bütün suşlar %90'dan daha fazla canlılık göstermiştir (Kondepudi vd., 2012). *L. acidophilus* L10, *Bifidobacterium animalis lactis* B94 ve *L. casei* L26 suşlarının canlılığına farklı prebiyotiklerin etkisi incelenmiş, L10 suşunun maksimum gelişimi sırası ile; soya oligosakkariti (SOS), fruktooligosakkarit (FOS) ve inülin ilavesi ile olmuştur. B94 suşunun maksimum gelişimi ise sırası ile SOS, rafinoz, FOS, β -glukan hidrolizati, inülin ve Fibregum TAN (%90'dan fazla diyet lifi içeren, arabik gamdan elde edilen ticari bir prebiyotik) ile gerçekleşmiştir. L26 suşunun maksimum gelişimi ise sırası ile FOS, inülin, SOS, β -glukan hidrolizati ve β -glukan konsantresi ortamında olmuştur. Prebiyotiklerin, farklı probiyotik suşların gelişimine farklı oranlarda etki ettiği görülmektedir (Su vd.,2007).

L. salivarius spp. *Salivarius* CECT 4063 ile zenginleştirilmiş mandalina suyunun fonksiyonel özelliklerine trehaloz ve homojenizasyon basıncının etkileri

araştırılmıştır. Meyve suları 0, 20, 100 MPa basınçlarda ve 0, 100 ve 300 g/kg miktarda trehaloz ile homojenize edilmiştir. CECT 4063 suşu 0, 1, 2, 3, 7, 10. günlerde 4⁰C’de analiz edilmiştir. Trehaloz ilavesi meyve suyunun yoğunluk ve viskozitesinde anlamlı derecede ($p<0.05$) farklılığa yol açmıştır. 300 g/kg trehaloz ilavesi, ortamdaki ozmotik basıncın artmasına ve *L. salivarius* gelişiminin düşük olmasına yol açarken, 100 g/kg trehaloz ilavesi yapılan meyve suyunda *L. salivarius*’un gelişimine olumsuz etkisinin olmadığı görülmektedir. En fazla *L. salivarius* sayısı 20 MPa basınçta homojenize edilen meyve suyunda görülmüş, 7. günün sonuna kadar başlangıç sayısında kalabilmiştir. 10. günün sonunda ise 1-2 log birim azalma göstererek *L. salivarius* sayısı 6.77 log kob/ml düzeyinde bulunmuştur (Betoret vd., 2017).

Sireswar vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, malt ekstraktı ile zenginleştirilmiş elma suyuna *L. plantarum*, *L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus* ve *L. casei* Shirota inoküle edilmiştir. Malt ekstraktı içermeyen elma sularında probiyotiklerin canlılığını uzun süre koruyamadığı rapor edilmiştir. Bu sonucun elma suyundaki düşük pH değerlerinden (2,8-3,5) kaynaklandığı belirtilmiştir. Malt ekstraktı ile zenginleştirilmiş elma suyunda ise probiyotik suşlar 14. günün sonuna kadar 8 log kob/ml düzeylerinde canlılık göstermiştir. Charalampopoulos vd. (2003), tarafından yapılan çalışmada pH’ı 2.5 olan fosfat tamponu çözeltisi içinde *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus reuteri*’nin canlılığına, malt, buğday ve arpa ekstraktlarının etkisi araştırılmıştır. Tahıl ekstraktı içermeyen örneklerde probiyotiklerde anlamlı düzeyde azalma tespit edilmiştir. *L. plantarum* sayısı malt ekstraktı ile kontrole göre 4 log birim, arpa ve buğday ekstraktı ile birlikte 3’er log birim artış göstermiştir. *L. acidophilus* ve *L. reuteri* sayısı da tahıl ekstraktı içeren çözeltiler içerisinde belirgin derecede artış göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, tahıl ekstraktlarının belirtilen probiyotikleri düşük pH ortamlarından koruyucu özellikte olduğu saptanmıştır.

Tam yulaf unu, fonksiyonel ürün geliştirilmesi amacı ile *L. plantarum* suşu ile fermente edilmiştir. 7, 14 ve 21. depolama günlerinde suşun canlılığı incelenmiş ve ürünün fizikokimyasal ve duyu analizleri yapılmıştır. Depolama süresi sonunda suş canlılığı 5×10^8 kob/ml düzeylerinde saptanmıştır. Tahıl

substratlarının probiyotik gelişimi ve canlılığı için uygun bir gıda matrisi olduğu görülmektedir (Russo vd., 2016). Salmeron vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada, *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 8821, *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826 ve *Lactobacillus reuteri* NCIMB 11951 ile fermente edilen tahıl içeceklerinin belirli periyotlarda fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyu analizleri gerçekleştirilmiştir. Üç suşun da tahıl ortamına adapte olduğu, duyu ve fizikokimyasal özelliklerinin uygun olduğu belirlenmiştir. 37°C, 10 saatlik fermantasyon sonunda bütün suşların 7.76-8.11 log kob/ml aralığında canlılık gösterdiği saptanmıştır. Gıda ortamının pH değeri 3,27-3,72 aralığında saptanmış, probiyotikler bu pH değerlerinde canlılıklarını koruyabilmiştir. Ürünlerin kabul edilebilirlik değerleri incelendiğinde *L. plantarum* içeren ürünün en yüksek puanı elde ettiği görülmüştür. Gupta ve Bajaj (2017), tarafından yapılan bir çalışmada, *L. plantarum* M-13 suşu ve bal kullanılarak fermente yulaf unu üretilmiştir. 4°C ve 25°C'lik 4 haftalık depolama süresi boyunca probiyotik canlılığı, pH değişimi, şeker, toplam laktik asit miktarı analiz edilmiştir. Aynı zamanda *Enterobacteriaceae*, küf ve maya sayımları da yapılmıştır. Oda sıcaklığında depolanan üründe 3 hafta boyunca *L. plantarum* canlılığını başarılı bir şekilde sürdürürken, 4. haftanın sonunda canlılığını kaybetmiştir. Buzdolabı sıcaklığında saklanan üründe ise 4. haftanın sonunda 13 log kob/ml düzeyinde canlılık görülmüştür. Başlangıç sayısı olan 16 log kob/ml'de yalnızca 2 birim azalma olduğu saptanmıştır. Toplam asit üretimi oda sıcaklığında depolanan üründe 2.16 g/100 ml iken, buzdolabı sıcaklığında depolanan üründe 1,74 g/100 ml olarak belirlenmiştir. pH değeri oda sıcaklığında başlangıç değeri 3,8'den 2'ye azalırken, buzdolabı sıcaklığında 4 olan başlangıç değeri yalnızca 3,8 değerine azalmıştır. Toplam şeker üretimi depolama sıcaklığına bağlı değişim göstermemiş, iki örnekte de 0.05 g/100 ml düzeyinde şeker saptanmıştır. Çalışmanın sonuçları incelendiğinde, fermente yulaf ununun probiyotik *L. plantarum* suşunun gelişimini desteklediği görülmektedir. Her iki örnekte de, ilk haftada maya gelişimi gözlenmiş, ikinci hafta sonunda küf gelişimi de gözlenmiş, fakat iki depolama sıcaklığında da 4 hafta sonunda bile *Enterobacteriaceae* gözlenmemiştir.

Pimentel vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada, *L. paracasei* içeren probiyotik elma suyunda sükraloz veya oligofruktoz ilavesinin ürünün kalite

özelliklerine etkisini araştırmıştır. Probiyotik ilavesinin meyve suyunda bulanıklığı artırdığı fakat duyuşal özelliklerini değiştirmediği saptanmıştır. Aynı Şekilde sükraloş veya oligofruktoş ilavesinin ürünün lezzetinde bozulmaya yol açmadığı belirlenmiş, bu iki bileşenin meyve suyunda Şeker ikamesi olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Kemsawasd ve Chaikham (2018) tarafından yapılan çalışmada, dut yaprağı ekstraktı içeren soya sütünden yapılan yoğurttaki *Lactobacillus casei* 01 ve *Lactobacillus acidophilus* La-5 suşlarının 4⁰C depolama sıcaklığında 30 gün boyunca canlı kalma durumu araştırılmıştır. *L. casei* suşunun canlı kalma oranının, dut yaprağı ekstraktı içeren ve içermeyen örnekte de La-5 suşuna kıyasla daha fazla olduğu görölmüştür. Depolama süresi sonunda ekstrakt içeren ve içermeyen örneklerde *L. casei* ve *L. acidophilus* sayıları sırası ile 5,95 ile 7,02 log arasında saptanmıştır. Dut yaprağı ekstraktı her iki probiyotik suşun canlılığında anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır ($p>0.05$). Ancak dut yaprağı ekstraktı içeren örneklerin antioksidan kapasitesi içermeyen örneklere göre anlamlı derecede farklı çıkmıştır. Chaikham (2015) tarafından yapılan çalışmada, aljinat ve bitki ekstraktları (*Anacardium occidentale*, *Tiliacora triandra*, *Centella asiatica*) kaplı probiyotiklerin meyve sularındaki stabilitesi araştırılmıştır. *L. casei* 01, *L. acidophilus* La-5 ve *Bifidobacterium lactis* Bb-12 suşları kullanılmıştır. 30 günlük depolama sonunda *A. occidentale* kaplı *L. casei* 01 suşunun, diğer ekstraktlar ile kaplı olandan daha fazla miktarda bulunduğu saptanmıştır. Bu bitki ekstraktlarının suşların stabilitesindeki etkisi yeşil çay ekstraktının etkisi ile karşılaştırılmış, *A. occidentale* ve yeşil çay ekstraktlarının suşların stabilitesini 30 güne kadar koruduğu saptanmıştır. Enkapsüle *L. casei* 01 ve *B. lactis* Bb-12 suşları, *L. acidophilus* La-5'e göre daha fazla canlılık göstermiştir.

Peredo vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada üç doğal probiyotik (patates nişastası, *Plantago psyllium* ve inülin) ve aljinat ile birlikte enkapsüle edilmiş, *L. casei* Shirota, *L. plantarum* Lp 33 ve Lp 17 suşlarının gastrointestinal sistemdeki canlılığı araştırılmıştır. *P.psyllium* ve inülin, aljinatla birlikte ko-enkapsüle Şekilde en yüksek oranda canlılık sağlamıştır (Lp17 için %94, Lp 33 için %78). Probiyotiklerin enkapsülasyonunda en çok kullanılan materyal aljinattır. Ancak aljinat, asidik ortamlarda stabilitesini koruyamamakta, bu

nedenle başka polimerler ile karışım halinde ya da polimerin aljinatın üzerine kaplanması ile uygulamalar yapılmaktadır (Shi vd., 2013). *L. bulgaricus* aljinat-süt ile ekstrüzyon yöntemi kullanılarak enkapsüle edilmiş, düşük pH (pH 2,0 , 2,5), yüksek safra tuzu konsantrasyonu (%1.0-2.0) ortamlarına *L. bulgaricus*'un toleransı araştırılmıştır. Safra tuzu ortamında enkapsüle örnekte canlılık 2 saate kadar korunurken (7,86 log), serbest haldeki örnekte 1 saatte başlangıç değeri 10 log olan sayının belirleme düzeyinin altına düştüğü belirlenmiştir. Başlangıç *L. plantarum* sayısı 10 log olan mikrokapsüllerde, pH 2 olan ortamda 2 saat sonunda 1-2 azalma meydana gelirken, pH 2,5 olan örnekte başlangıç sayısı korunmuştur. Depolama süresi (4°C'de 1 ay) boyunca mikrokapsüllerdeki *L. plantarum* başlangıçtaki sayısını korurken, serbest haldeki örnekte 10 log'dan 2.3 log değerine azalma olduğu görülmüştür (Shi vd., 2013). Li vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada, *L. casei* aljinat/kitosan/karboksimetil kitosan kompleksi ile kaplanmış, 4°C'de 4 haftalık depolama sonunda 8 log değerinde canlılık saptanmıştır. pH'ı 2 olan ortama 2 saat maruz bırakılma sonucu *L. casei* sayısı 7,91 log ve %1'lik safra tuzu ortamına 6 saat maruz bırakılma sonucu ise 7.42 log canlılık gözlenmiştir. Kullanılan kaplama materyallerinin *L. casei*'yi stres koşullarından korumada etkili olduğu belirlenmiştir. Pranckute vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, yoğurttan izole edilmiş 7 probiyotik bakteri suşu oligosakkaritler ile kültüre edilmiştir. Bütün suşların glukozu en iyi kullandığı, pullulandan elde edilen oligosakkaritlerin ise probiyotikler tarafından etkili bir biçimde kullanılmadığı rapor edilmiştir. Suşların oligosakkaritleri kullanma yeteneğinin suşa özgü olduğu vurgulanmıştır.

2.4 Probiyotiklerin Antimikrobiyal Özellikleri ve İnsan Sağlığına Etkileri

Probiyotiklerin, patojen mikroorganizmalara karşı inhibitif etkisi bilinmektedir. Thirabunyanon ve Thongwittaya (2012) tarafından yapılan çalışmada *Salmonella* Enteritidis'in yeni bir probiyotik olan *Bacillus subtilis*'in bağırsak epitelyum hücrelerine invazyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. *S. Enteritidis* sayısı epitel hücrelerde 4,8 log olarak saptanırken, *B. subtilis* ile birlikte inkübe edildiğinde 3,9 log değerlerinde saptanmıştır. Fredua-Agyeman vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, bazı ticari probiyotiklerin *Clostridium difficile* gelişimine etkisi izotermal mikroklorimetri yöntemi kullanılarak

araştırılmıştır. Bu, mikroorganizmanın gelişmesini gerçek zamanlı olarak izlenmesine olanak veren bir yöntemdir. Çalışmada *L. acidophilus* LA-5®, *B. lactis* BB-12®, Probio 7®, Symprove™ probiyotikleri *C. difficile* ile birlikte Brain Heart Infusion Broth'a inoküle edilmiş, ortama %0.1 L-sistein hidroklorit ve % 0.1 sodyum taurokolat ilave edilmiştir. Sonuçlara göre, *C. difficile* pH değerlerinden bağımsız olarak bütün probiyotikler tarafından inhibe edilmiştir. Probiyotiklerin organik asit üretiminden ayrı olarak, *C. difficile* inhibisyonuna neden olacak başka bileşikler de üretmiş olabileceği belirtilmiştir. *C. difficile* gelişimi en fazla pH 6.45-6.9 arasında gözlenmiştir. Burke ve Moore (2017) tarafından yapılan çalışmada *B. subtilis* PB6 suşunun atlarda hastalık yapan altı patojene karşı antagonistik etkisi araştırılmıştır. *B. subtilis* PB6 suşunun test patojenlere karşı inhibisyon etkisi olduğu belirlenmiş ve inhibisyon zonları; *C. perfringens*, *Streptococcus equi*, *Rhodococcus equi* ve *C. difficile* için sırası ile 18, 10,89, 9,11 ve 13,33 mm olarak saptanmıştır. *E. coli* ve *S. Typhimurium* suşlarında ise inhibisyon zonu saptanmamıştır. Collado vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada, farklı probiyotik türlerin kombinasyonunun, insan ince bağırsak mukozasında patojenlerin tutunmasını inhibe etme özellikleri *in vitro* ortamda araştırılmıştır. Çalışmada *Lactobacillus rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LC705, *B. breve* 99 ve *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Shermanii* JS türleri kullanılmıştır. Türler tek başlarına ve diğer türler ile birlikte kullanıldığında patojenlerin mukusa tutunmasını farklı oranlarda inhibe etmiştir. Adhezyon inhibisyonunun suşa spesifik bir özellik olduğu tespit edilmiştir. Prabhurajeshwar ve Chandrakanth (2017) tarafından yapılan çalışmada lor peynirinden 30 adet *Lactobacillus* spp. izole edilmiş, bunlardan 16 tanesinin potansiyel probiyotik özellikte olduğu belirlenmiştir. Probiyotik olarak belirlenen türlerin *S.aureus* (MTCC 96), *Enterococcus faecalis* (MTCC439), *Klebsiella pneumonia* (MTCC 432), *Pseudomonas aeruginosa* (MTCC 7925), *E. coli* (MTCC 443), *Salmonella typhii* (MTCC734) ve *Shigella* spp. (MTCC 13313) üzerine antagonistik aktivitesi agar difüzyon metodu ile test edilmiştir. Probiyotikler ortalama 15-25 mm arasında inhibisyon meydana getirdiği, bazı suşların ise daha yüksek inhibisyon etkisi olduğu gözlenmiştir (28-32 mm). Antimikrobiyal etkinin, probiyotikler tarafından üretilen organik asitler, bakteriyosinler ve hidrojen peroksit bileşiklerinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

Iglesias vd. (2017), tarafından yapılan çalışmada, *Lactobacillus rhamnosus* GG ve *Lactobacillus acidophilus* La-5 suşlarının *Salmonella enterica* ve *Listeria monocytogenes*'a karşı antagonistik etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, taze armut suyuna belirtilen suşlar farklı kombinasyonlarda inoküle edilmiştir. 5⁰C, 10⁰C ve 20⁰C'de meyve suları depolanmış, patojen mikroorganizmaların sayısı belirli zaman periyotlarında analiz edilmiştir. *L. acidophilus* La-5 suşu patojenlere karşı hiçbir antagonistik etki göstermemiş, aksine bu suş ile birlikte inoküle edilen patojenlerin sayısında artış olduğu gözlenmiştir. *L. acidophilus* La-5 suşunun, patojenlerin kullanacağı bazı metabolitler ürettiği olabileceği belirtilmiştir. *L. rhamnosus* GG ile birlikte inoküle edilen *Salmonella* popülasyonunda yaklaşık 2 log, *L. monocytogenes* sayısında ise 3 log'dan daha fazla azalma olduğu görülmüştür. Gram pozitif bakterilerin Gram negatiflere göre laktobasillere karşı daha hassas olduğu bazı çalışmalar ile belirtilmiştir. Sonuç olarak *L. rhamnosus* GG suşunun patojenlerin gelişimini kontrol etmede kullanılabileceği saptanmış, taze armut suyunun probiyotikler için uygun bir gıda matrisi olabileceği belirtilmiştir.

Probiyotiklerin mikotoksinlerin biyoerişilebilirliğini azalttığı çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Kabak ve Özbey (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, *Bifidobacterium longum*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*'un iki suşu ve *L. casei* Shirota'nın, farklı gıda matrislerindeki aflatoksinlerin biyoerişilebilirlik değerlerinde %13-%35 arasında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. En yüksek azalmanın *L. acidophilus*, en düşük azalmanın ise *L. casei* Shirota ile sağlandığı rapor edilmiştir. Benzer şekilde, Saladino vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada, *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. *in vitro* ortamda, gıdadaki aflatoksin biyoerişilebilirliğini azalttığı tespit edilmiştir. En fazla azalma *Lb. johnsoni*, *Lb. reuteri*, *Lb. plantarum*, *Lb. casei* tarafından sağlanmıştır. Bütün suşlar AFB₁ ve AFB₂ miktarında sırası ile %76 ile %98 oranında azalma sağlamıştır.

Braňek vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, taze karidesten 8 adet laktik asit bakterisi izole edilmiş, bunların *Enterococcus lactis* suşları olduğu belirlenmiştir. Tanımlanan suşlar bağırsak enzimlerinin bulunduğu koşullarda düşük pH ve safra asidine karşı direnç göstermiş, ayrıca güçlü kolonizasyon ve adhezyon özelliklerinin olduğu saptanmıştır. Bütün suşların antibiyotiklere karşı

duyarlı olduğu tespit edilmiş ve hiçbir virülans faktörü saptanmamıştır. *E. lactis* suşlarının umut vadeden probiyotik özellikler gösterdiği ve starter kültür olarak kullanılma potansiyeli olduğu belirtilmiştir. Bazı *E. faecium* ve *E. faecalis* suşları da probiyotik özellik göstermekte ve genellikle farmasötik alanda kullanılmaktadır. Bu probiyotikler; diyareye, antibiyotik kaynaklı diyareye ve huzursuz bağırsak sendromuna karşı tedavi edici özellikte olup, immün sistemi güçlendirici ve kolesterol düşürücü etkileri de bulunmaktadır (Franz vd., 2011).

Son yıllarda probiyotik ve prebiyotiklerin kombinasyonu olarak adlandırılan sinbiyotik terimi sıkça kullanılmaktadır. Kojima vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, oral patojenlere karşı sinbiyotiklerin geliştirilmesi araştırılmıştır. Bu amaç ile farklı *Lactobacillus* suşları izole edilmiş, farklı sakkaritler ile kombine edilmiş ve *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* ve *Porphyromonas gingivalis* patojenleri ile birlikte kültüre edilmiştir. 40 *Lactobacillus* türünden 29 tanesi *C. albicans*'ın gelişmesini inhibe etmiştir. *Porphyromonas gingivalis* için disk difüzyon yöntemi uygulanmış, 9-12 mm arasında inhibisyon zonu gözlenmiştir. *S. mutans*'ın ürettiği çözünmeyen glukoz üzerine inhibitif etki göstermiştir. Chapman vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada, idrar yolu patojenleri olan *Escherichia coli* NCTC 9001 ve *Enterococcus faecalis* NCTC 00775 üzerine tek ve karışık probiyotik türlerin inhibitif etkisi araştırılmıştır. *L. acidophilus* NCIMB 30184, *L. fermentum* NCIMB 30226, *L. plantarum* NCIMB 3018 ve *L. rhamnosus* NCIMB 30188 probiyotikleri kullanılmış, patojenlerin inhibisyonunun gözlenmesi amacı ile biyofilm oluşumu incelenmiştir (Crystal Violet Assay). *E.coli*'yi tek başına sadece *L. rhamnosus* inhibe edebilmiş, probiyotik karışımlarının hepsinde inhibisyon görülmüştür. *E. faecalis*'i en etkili *L. plantarum* inhibe etmiş, karışımlardan ise en etkili ticari kültür olan Bio-Kult olmuştur. Tek ve karışım halinde uygulanan probiyotikler arasında inhibisyon derecesi bakımından belirgin bir fark gözlenmemekle birlikte, ileriki çalışmalar ile probiyotiklerin kombinasyonu mekanizmasının daha iyi anlaşılabilceği belirtilmiştir. Tejero-Sariñena vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* ve *Bacillus* türlerinin 15 suşunun Gram pozitif ve Gram negatif patojenlere karşı inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Kullanılan *Lactobacillus* suşlarının tamamı bütün patojenlere karşı inhibisyon etkisi

göstermiştir. En fazla inhibitif etkiyi *Lactobacillus salivarius* ssp. *salivarius*, *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. plantarum* göstermiştir. *B. breve*, *Bifidobacterium* spp. içerisinde en etkili olarak saptanmış, *B. infantis* ise hiçbir inhibitif etki göstermemiştir. *Lc. lactis*, *Lactobacillus* spp. ile benzer derecede inhibitif etki göstermiş, *S.salivarius* ise 8 saat boyunca yalnızca bazı patojenlerde inhibitif etki göstermiş, 8 saatten sonra ise bu etki gözlenmemiştir.

İki *B. subtilis* suşunun ve prebiyotik özellik gösteren levanın bağırsak mikrobiyotasına ve immün sistem üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, her iki suş, ürettiği levan ile birlikte uygulandığında farelerin immün sistemi ve bağırsak mikrobiyotası düzenlenmiştir. *B. subtilis* ve ürettiği levanın sinbiyotik özellik gösterdiği ve ileriki çalışmalar için umut vadecici olduğu belirtilmiştir (Hamdy vd., 2018).

Üç farklı *Lactobacillus* suşunun, immün sistemi düzenleme aktiviteleri *L. rhamnosus* GG ile karşılaştırılmıştır. *L. paraplantarum* MTCC 9483 suşu, oksidatif stres, LPS-indükleme, patojen yayılması durumlarında güçlü immün düzenleyici etki göstermiş ve bu suşun farmasötik alanda veya gıda endüstrisinde prebiyotik gıda geliştirilmesi amacıyla kullanım potansiyeli olduğu vurgulanmıştır (Devi vd., 2018).

Probiyotik ve prebiyotiklerin bağırsak mikrobiyotası ile olan ilişkisi bilinmektedir. Probiyotiklerin rotavirüs ve *C. difficile* kaynaklı diyarenin süresini kısaltmada rol oynadığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. *Saccharomyces boulardii*, *L. acidophilus* ve *L. bulgaricus*, *Enterococcus faecium* SF68, *B. longum* ve *Lactobacillus* GG türlerinin antibiyotik kaynaklı diyareyi önlemede etkili olduğu açıklanmıştır. *B.breve*, *B.longum*, *B. infantis*, *L.acidophilus*, *L.plantarum*, *L.paracasei*, *L.bulgaricus* ve *S.thermophilus*'tan oluşan karışık kültürün ülseratif kolit türlerine karşı etkili olduğu belirlenmiştir (Quigley, 2010). *S. boulardii*'nin uzun vadede Chron hastalığını kısmen iyileştirdiği belirtilmiştir (Lichtenstein vd., 2016). Fruktooligosakkaritlerin yüksek kolesterol, yüksek kan şekeri ve bağırsak rahatsızlıklara karşı etkili olduğu çalışmalar ile belirlenmiştir (Yasmin vd., 2015). Geier vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada, iltihaplı bağırsak hastalığı

tedavisinde probiyotik ve prebiyotiklerin kullanım potansiyelinin olduğu ve bu konudaki araştırmaların artması gerektiği belirtilmiştir.

Dünyada 350 milyondan fazla insan depresyon ve duygu durum bozukluğu rahatsızlıkları yaşamaktadır. Bu rahatsızlığın nedenleri psikolojik olabildiği gibi fizyolojik nedenlerden de kaynaklanmaktadır. Patojen mikroorganizmalar iltihaba neden olacak metabolitler üreterek beyin fonksiyonlarında değişime yol açarak depresyon, anksiyete, panik atak gibi duygu durum bozukluklarına neden olmaktadır. Probiyotikler ise antiinflamatuvar metabolitler üretmekte, beyin fonksiyonlarını ve hafızayı geliştirmekte bu da dolaylı olarak merkezi sinir sistemini etkilemektedir. Probiyotik mikroorganizmalar içeren yoğurt, peynir, kefir, fermente sebze ve meyveler, kimçi, turşular ve fermente tahıllar depresyon ve anksiyeteye karşı koruma sağlamaktadır (Gayathri ve Rashmi, 2017). Birçok çalışmada probiyotik tüketiminin, depresyon ve anksiyete üzerinde olumlu etkileri olduğu belirlenmiştir (Pirbaglou vd., 2016). *B. longum* ve *B. breve* ile beslenen farelerde bilişsel aktivitenin düzenlendiği saptanmıştır (Savignac vd., 2015).

Kazemi vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, probiyotik ve prebiyotiklerin tüketiminin majör depresif bozukluğa (MDD) karşı etkisi araştırılmıştır. Depresyon geçiren 81 hasta üç grup olarak ayrılmış; 8 hafta boyunca bir gruba probiyotik, bir gruba prebiyotik ve diğer gruba da plasebo ilaçlar verilmiştir. Probiyotik verilen grupta, diğer iki gruba kıyasla majör depresif bozukluk skalasında daha düşük puanlar görölmüş, probiyotiklerin MDD'ye karşı iyileştirici özelliği olduğu saptanmıştır. İleriki çalışmalar ile bu etkinin daha uzun periyotlarda incelenmesi gerektiği vurgulanmıştır. Ng vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada ise plasebo ve probiyotik tüketen depresyon hastalarının MDD dereceleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görölmemiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Üzüm ve üzüm şırası

Üzüm turşusu üretiminde müşküle cinsi (*Vitis vinifera*) beyaz üzüm kullanılmış olup, üzümler Sakarya'daki yerel üreticiden temin edilmiştir. Yapıncak üzümünden geleneksel yöntem ile kaynatılarak elde edilmiş üzüm şırası Tekirdağ'daki yerel üreticiden temin edilmiştir. Müşküle üzümleri, kavanoza eklenmek için büyük salkımlar halinde ayrılmış ve buzdolabında saklanmıştır. Üzüm şırası ise oda sıcaklığında saklanmıştır.

3.1.2 Hiren kökü

Üzüm turşusuna konulacak hiren kökleri (*Armoracia rusticana*), Tekirdağ'daki yerel üreticiden temin edilmiştir. Hiren kökleri yaklaşık 0,5x0,5x8 cm boyundaki çubuklar halinde kesilmiştir. Hiren ekstraktında kullanılacak hiren kökleri ise dilimlenerek robottan geçirilip toz haline getirilmiştir. Bütün örnekler buzdolabında saklanmıştır.

3.1.3 Test kültürleri

Lactibacillus acidophilus La-5, Chr. Hansen® firmasından temin edilmiştir. *E.coli* ATCC 25922, *B.cereus* ATCC 10876 suşları Gaziosmanpaşa Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Doç. Dr. Şeniz Karabıyıklı'dan, *B.cereus* No:8 Hollanda ve *E.coli* DSM 1103 suşları Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

3.2 Yöntem

3.2.1 Kültürlerin hazırlanması

Hirenin antimikrobiyal etkisini belirlemek amacı ile yapılan denemelerde kullanılan *L. acidophilus* La-5 kültürü liyofilize kültür kullanılarak

geliştirilmiştir. Liyofilize kültür 10 ml De Man Rogosa Sharpe Broth (MRS Broth, pH 5,5±0,2, Merck)'da 37⁰C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Biyokütle 2000 g, 10 dakika 4⁰C'de santrifüj cihazı (Hettich®) ile ayrılmış, iki defa steril peptonlu su ile kalan MRS Broth'un uzaklaştırılması için yıkanmıştır. *L.acidophilus* hücre konsantrasyonu 7 log kob/ml olması için MacFarland densitometre cihazı (Grant-bio®) kullanılarak ayarlanmıştır (Valero-Cases vd., 2017).

Probiyotik özellikte üzüm turşusu üretimi için ise, 0,5 g liyofilize *L. acidophilus* La-5 kültürü, kavanoza ilave edilmiştir.

E. coli ATCC 25922 ve *E.coli* DSM 1103 suşları Triptik Soy Broth (TSB, pH 7,3±0,2, Merck) besiyerinde 37⁰C'de 16-18 saat iki defa aktifleştirildikten sonra kullanılmıştır. Hazırlanan kültürler eşit oranda karıştırılmıştır. Başlangıç inokulumu tüplerde 9 ml peptonlu su ile, istenen son inokulum miktarı 10⁶ kob/ml değerini elde etmek amacıyla seyreltilmiştir. MacFarland densitometre cihazı (Grant-bio®) ile istenilen popülasyon değerine ayarlanmıştır. Her örneğe inoküle edilen bakteri kültürünün %0,1'lik peptonlu su (PW, pH 7,2±0,2, Oxoid) çözeltilisinde seri dilüsyonları hazırlanmıştır (Tsiraki vd., 2018). Kültür süspansiyonundaki sayıyı doğrulamak amacıyla kültürün peptonlu suda desimal dilüsyonları hazırlanmış, Tripton Soy Agar besiyerine (TSA, pH 7,3±0,2, Oxoid) ekim yapılmış, 37⁰'de 24 saat inkübe edilmiştir. Petri sayım sonuçlarına göre kültürdeki mikroorganizma sayısı doğrulanmıştır.

B.cereus ATCC 10876 ve *B.cereus* No:8 Hollanda suşları için; kültürler iki kere TSB'de 30⁰C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, aktifleştirilmiş olan kültürler TSB besiyerine inoküle edilmiştir. Logaritmik üreme aşamasının sonunda kültür elde etmek için 30⁰C'de 12 saat inkübe edilmiştir. Hazırlanan *B.cereus* kültürleri 1:1 oranında karıştırılmış ve densitometre cihazı (Grant-bio®) kullanılarak 10⁶ kob/ml düzeyine ayarlanmıştır (Chen vd., 2009). Kültür süspansiyonundaki sayıyı doğrulamak amacıyla kültürün peptonlu suda desimal dilüsyonları hazırlanmış, TSA'ya ekim yapılmış, 37'de 24 saat inkübe edilmiştir. Petri sayım sonuçlarına göre kültürdeki mikroorganizma sayısı doğrulanmıştır.

3.2.2 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının üretimi ve depolanması

Yerel üreticiden temin edilen üzüm, hiren ve üzüm şırası kullanılarak kavanozun içerisine 1 kat üzüm salkımı, 1 kat hiren çubukları şeklinde yerleştirilmiştir. En üst tabakaya tekrar hiren çubukları eklenmiş, kavanoz üzüm şırası ile doldurulmuştur. Bu amaçla, steril edilmiş (200 cc) kavanozlar kullanılmış olup, bir kavanoz için 100 g müşküle üzümü, 175 ml üzüm şırası, 20 g hiren çubuğu olacak şekilde üzüm turşuları hazırlanmıştır. Hiren içermeyen üzüm turşuları için de aynı miktarda üzüm ve şıra kullanılmıştır. Probiyotik içeren ürün gruplarına probiyotik suş, üzüm turşusu hazırlandıktan sonra başlangıç anında ilave edilmiştir. Hazırlanan üzüm turşuları 35 gün boyunca 25°C'de olgunlaşması için bekletilmiştir. Ürünlerin olgunlaştırma süresince haftada bir olmak üzere örnekler alınarak mikrobiyolojik ve kimyasal analizler yapılmıştır. Üretimler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

Üzüm turşusu aşağıda belirtilmiş olan dört grup olarak hazırlanmıştır.

1. Grup: Geleneksel yöntem ile üretilen üzüm turşusu
2. Grup: Hiren eklenmeden hazırlanan üzüm turşusu
3. Grup: Geleneksel ürüne probiyotik ilave edilmiş üzüm turşusu
4. Grup: Hiren içermeyen yalnızca probiyotik ilavesi içeren üzüm turşusu



Şekil 2.2 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşusu örnekleri.

Bu şekilde hazırlanan 4 grup ürün ile, yalnız hirenin, yalnız probiyotik kültürün, probiyotik kültür ve hirenin birlikte, ürünün kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkileri incelenmiş, aynı zamanda, hirenin probiyotik kültürün canlılığına etkisi olup olmadığı araştırılmıştır. Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşuları 25⁰C'de 35 gün olgunlaştırıldıktan sonra 4⁰C'de 5 ay süre ile depolanmıştır. Depolama süresi boyunca ayda 1 defa olmak üzere örnekler alınarak mikrobiyolojik ve kimyasal analizler yapılmıştır.

3.2.3 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi

3.2.3.1 Gıda homojenatının hazırlanması

Gıda homojenatının hazırlanması amacıyla, üzüm turşusu örneklerinin sıvı kısmından 5 g alınarak steril örnek şişesine aktarılmış ve üzerine 5 ml steril peptonlu su (%0,1 pepton) eklenmiştir.

3.2.3.2 Küf ve maya sayımı

Hazırlanan gıda homojenatından uygun desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Desimal dilüsyonlardan 0,1 ml alınarak, Potato Dextrose Agar (PDA, pH 5,6±0,2 Oxoid) besiyerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petriler 25⁰C'de 5 gün inkübe edilmiştir. 15-150 arası koloni içeren petrilerden sayım alınmıştır (FDA, 1998).

3.2.3.3 Toplam laktik asit bakterisi sayımı

Toplam laktik asit bakteri sayımı için MRS Agar (MRS Agar, pH 5,5±0,3, Merck) kullanılmıştır. Desimal dilüsyonlardan MRS Agara çift tabakalı dökme plak yöntemi ile ekim yapılmış, 30⁰C'de 3 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda sayım sonucu alınmıştır. Böylece gıdanın içerdiği toplam laktik asit bakteri sayısı belirlenmiştir (Sanders, 2012).

3.2.3.4 *Lactobacillus acidophilus* La-5 sayıları

L. acidophilus sayımı için %1,5 oranında safra çözeltisi içeren MRS Agar besiyeri kullanılmıştır. Safra çözeltisi için 10 g safra 100 ml distile suda çözündürüldükten sonra, 121°C'de 15 dk sterilize edilmiştir. Hazırlanan steril çözelti kullanımdan önce steril MRS Agar besiyerine aseptik koşullarda ilave edilmiştir. Desimal dilüsyonlardan MRS-B agara çift katlı dökme plak yöntemiyle petrilere ekim yapılmıştır. Probiyotik ilave edilmemiş örneklerde de *L.acidophilus* sayımı yapılarak başlangıç yükü araştırılmıştır (Gebara vd., 2015).

3.2.4 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının kimyasal özelliklerinin belirlenmesi

3.2.4.1 pH Değeri

pH ölçümü Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan pH probunun gıda homojenatına daldırılması ile belirlenmiştir (Tüfekçi ve Fenercioğlu, 2010).

3.2.4.2 Titrasyon asitliği

Titrasyon asitliği potansiyometrik yöntem ile belirlenmiştir. Üzüm turşusunun sıvı kısmından 4 g tartılmış, 8 ml saf su ile karıştırılmıştır. Karışım, manyetik balık içeren erlen içerisinde, manyetik karıştırıcıda 0,1 N NaOH ile titre edilmiş, pH metre probunun erlene daldırılması ile pH değeri okunmuştur. pH'ın 8,1 değerini gösterdiği noktada büretten NaOH sarfiyatı okunmuş, aşağıda verilen formüle göre titrasyon asitliği tartarik asit cinsinden hesaplanmıştır (Dorey vd.,2016).

$$\% \text{ titrasyon asitliği: } V(V) \times 0.007 \times 100 / M(M)$$

3.2.4.3 Briks değeri

Gıda homojenatından 0,5 g alınarak 1 g su ile karıştırılmış, karışımın briks değeri el refraktometresi ile belirlenmiştir (Muradoğlu vd, 2011).

3.2.5 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının duyuşal özelliklerinin belirlenmesi

Duyusal test çoklu kıyaslama testi ile yapılmıştır. Bu test 3 veya 3'ten fazla örneğın değerlendirilmesi gerektiğinde uygulanmaktadır. Çoklu kıyaslama testlerinde farklılığın olup olmadığı belirlendiğı gibi, farklılığın derecesi de saptanabilmekte ve örneklerin kalitesinde iyileşme veya bozulma olup olmadığı belirlenebilmektedir. Bu amaçla panelistlere 4 örnek bir arada sunulmuş ve panelistlerden örnekleri bir skalaya göre değerlendirilmeleri veya tercih ya da yoğunluklarına göre sıralamaları istenmiştir (Onoğur ve Elmacı, 2015). Duyusal analiz formu Ek1'de verilmiştir.

3.2.6 Üzüm turşusunun olgunlaştırılması ve depolanması sırasında *B.cereus* ve *E.coli*'nin canlı kalma durumunun belirlenmesi

Meyve ve sebzelerde mikrobiyal florayı küf ve mayalar domine etse de, patojen ve hastalık yapıcı bakterilerin de taze sebze ve meyvelerde bulunarak enfeksiyonlara neden olduğı raporlanmıştır. Meyveler, sebzeler ve pastörize edilmeden üretilen meyve suları yetiştirilme, toplanma, hasat öncesi ve hasat sonrası gibi aşamalarda ve geçirdiğı prosesler sırasında kontamine olabilmektedir. *Bacillus cereus* ve *Escherichia coli* de meyve sebzelerde bulunma riski olan türlerdendir (Beuchat, 2002). Bu nedenle üzüm turşusunda, Gram negatif ve fekal koliform indikatörü olan *E.coli* ve Gram pozitif, patojen *B.cereus* türlerinin canlı kalma durumu incelenmiştir.

3.2.6.1 *B.cereus* ve *E.coli* kültürlerinin üzüm turşularına inokülasyonu

Bölüm 3.2.2.2'de belirtildiğı şekilde üretilen probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularına başlangıç anında iki farklı konsantrasyonda (10^3 ve 10^6 kob/ml) *B.cereus* veya *E.coli* kültür süspansiyonları ayrı ayrı inoküle edilmiştir. Üzüm turşularının olgunlaştırılması sırasında haftada bir defa, depolanması sırasında ise ayda bir defa örnek alınarak *B.cereus* ve *E.coli* sayıları belirlenmiştir. 3.2.1'de belirtildiğı şekilde 10^6 kob/ml sayıda hazırlanan kültür süspansiyonundan uygun dilüsyonlar yapılarak 10^3 düzeyinde kültür

hazırlanmıştır. Kültür süspansiyonundaki sayıyı doğrulamak amacıyla kültürün peptonlu suda desimal dilüsyonları hazırlanmış, TSA'ya ekim yapılmış, 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Petri sayım sonuçlarına göre kültürdeki mikroorganizma sayısı doğrulanmıştır. Kültürün 10³ kob/ml içeren dilüsyonu düşük doz kültür içeren üzüm turşusuna inoküle edilmiştir. 10⁶ kob/ml olan kültür de yüksek doz inokülasyon yapılacak üzüm turşusu örneklerine inoküle edilmiştir.

3.2.1'de belirtildiği şekilde 10⁶ kob/ml sayıda hazırlanan kültür süspansiyonundan uygun dilüsyonlar yapılarak 10³ düzeyinde kültür hazırlanmıştır. Kültür süspansiyonundaki sayıyı doğrulamak amacıyla kültürün peptonlu suda desimal dilüsyonları hazırlanmış, TSA'ya ekim yapılmış, 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Petri sayım sonuçlarına göre kültürdeki mikroorganizma sayısı doğrulanmıştır. Kültürün 10³ kob/ml içeren dilüsyonu düşük doz kültür içeren üzüm turşusuna inoküle edilmiştir. 10⁶ kob/ml olan kültür de yüksek doz inokülasyon yapılacak üzüm turşusu örneklerine inoküle edilmiştir. İnokülasyon yapılmamış ürünlerde de *B.cereus* ve *E.coli* sayımları yapılarak başlangıç yükü araştırılmıştır.

3.2.6.2 Üzüm turşusunun olgunlaştırılması ve depolanması sırasında *B.cereus* ve *E.coli* sayılarının belirlenmesi

B.cereus veya *E.coli* kültür süspansiyonu ile inoküle edilmiş probiyotik içeren veya içermeyen üzüm turşularında olgunlaştırma süresince haftada bir, depolama süresince ayda bir örnekler alınarak *B.cereus* ve *E.coli*'nin canlı kalma durumları araştırılmıştır. Bu amaçla alt bölüm 3.2.3.1'de belirtildiği şekilde gıda homojenatı elde edildikten sonra, uygun desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. *B.cereus* sayımı için uygun dilüsyonlardan ile 0,1 ml örnek alınıp Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agarda (MYP, pH 7,2±0,2, Merck) yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petriler 30⁰C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda presipitasyon zonu olan pembe renkli koloniler sayılmıştır. Reaksiyon açıkça görülüyor ise 24 saat daha inkübasyon yapılmış, 15-150 arasında koloni içeren petrilere sayım alınmış, gıdanın gramındaki *B. cereus* sayısı hesaplanmıştır (FDA 1998).

E.coli sayımı için, gıda homojenatından desimal dilüsyonlar hazırlanmış, ile 0.1 ml örnek alınıp Tyrptone Bile-X Glucuronide Agar (TBX, pH 7,2±0,2 Oxoid) besiyerine yayma plak yöntemi ile ekim yapılmış, petriler 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. TBX besiyerinde, *E.coli* yeşil koloniler şeklinde görülmüş, 30-300 arasında koloni içeren petrilere sayım alınmış, gıdanın gramındaki *E.coli* sayısı hesaplanmıştır (FDA 1998).

3.2.7 Hirenin (*Armoracia rusticana*) antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi

3.2.7.1 Hiren ekstraktlarının hazırlanması

Hiren köklerinin ince şeritler halinde kesilip robottan geçirilmesi ile öğütülmüş hiren kökü elde edilmiştir. Hiren su ekstraktı hazırlanması için, 100 g hiren tozu 200 mL distile su ile karıştırılmış, oda sıcaklığında 1 gün bekletilmiştir. Ultrasonik su banyosu cihazında 30 dakika ekstrakte edildikten sonra, önce Whatman No:1 ile, ardından 0,45µm filtre kağıdı ile steril edilmiş ve hiren su ekstraktı analizlerde kullanılmak üzere buzdolabında saklanmıştır (Herz vd., 2017).

Hiren alkol ekstraktı eldesi için; robottan geçirilen hiren çubuklarından elde edilen 100 g hiren tozu %96'lık 200 ml metil alkol ile karıştırılmış, 2 gün oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ultrasonik su banyosu (Bandelin Sonorex Super RK106) cihazında 30 dakika ekstrakte edildikten sonra, Whatman No:1 ile süzülmüştür. Ardından 13 000 rpm, 15 dk Rotary Evaporator (Heidolph®) ile alkol uçurulmuştur. 0,45 µm filtre ile steril edildikten sonra hiren alkol ekstraktı analizlerde kullanılmak üzere buzdolabında saklanmıştır (Sales vd., 2016).

3.2.7.2 Mikrodilüsyon yöntemi ile minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi

MİK testi için; 200 µl hiren ekstraktı 96 kuyucuk içeren mikropakanın ilk kuyucuğuna eklenmiştir. Diğer kuyucuklara ise 100µl Mueller Hinton besiyeri (Merck) eklenmiştir. İlk kuyucuktan başlayarak, her kuyucuktan 100 µl alınıp yanındaki kuyucuğa aktarılarak 10 kez seyreltme işlemi yapılmıştır. Son

kuyucuğa ekstrakt eklenmemiş olup, sadece besiyeri içeren bu kuyucuk pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. MİK testinde *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Lactobacillus acidophilus* La-5 suşları kullanılmıştır. Bölüm 3.2.1’de belirtildiği şekilde hazırlanan 10^6 kob/ml düzeyindeki kültür süspansiyonlarından 10 µL alınarak kuyucuklara inoküle edilmiştir. Mikroplakalar kapatılmış, 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Üremenin gözlenmediği en seyreltik olan kuyucuk, mikroorganizmanın gelişimini engelleyen minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) olarak ifade edilmiştir (Vetas vd., 2017).

3.2.7.3 Minimum bakterisidal konsantrasyonun (MBK) belirlenmesi

MBK testi için; MİK testinde üreme olmayan her kuyucuktan 10 µl alınarak Tryptone Soy Agara (TSA, pH 7,2±0,2, Merck) aktarılmış, 37°C’de 24 saat inkübe edilerek, koloni sayımı yapılmıştır. MBK değeri, petride üreme olmayan en düşük inokulum miktarını ifade eder (Vetas vd.,2017).

3.2.7.4 Disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Mueller-Hinton Agar (MHA, pH 7,2±0,2, Merck) kullanılarak yapılmıştır. Her mikroorganizma kültüründen yaklaşık 0,1 ml MHA üzerine steril spatül ile yayılmıştır. 4 adet steril kağıt disk agar üzerine yerleştirilmiş, 2 disk üzerine ekstraktlar, 1 tanesine metanol ve 1 tanesine su emdirilmiştir. Petriler 35°C’de 18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda inhibisyon zonunun çapları ölçülmüştür (Perez vd., 2014).

3.2.8 İstatistiksel analizler

Yapılan analizler iki tekrarlı ve iki paralelli olacak şekilde yapılmıştır. Deney sonuçları IBM SPSS 25 programı kullanılarak Kruskal Wallis testi ile incelenmiştir. İki örneğin karşılaştırıldığı analizlerde ise Mann Whitney U testi kullanılmıştır ($p<0.05$).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi

4.1.1 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının olgunlaştırılması sırasında mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi

4.1.1.1 Küf ve maya sayıları

Olgunlaştırma periyodunda geleneksel, hiren içermeyen, geleneksel ve probiyotik içeren, hiren içermeyen ve probiyotik içeren olmak üzere 4 grup olarak hazırlanan üzüm turşusu örneklerinde 25°C'de 35 günlük olgunlaştırma süresince küf ve maya sayıları incelenmiştir. Başlangıç anından (0. günden) itibaren 7 gün ara ile küf ve maya sayımı yapılmıştır. Başlangıç anında 1,77 ile 2,74 kob/ml arasında olan küf sayısı 7.günde 1,39 ile 1,77 kob/ml aralığında saptanmıştır. 7 gün içinde tüm örneklerdeki küf sayılarında 0,5-1 log arasında azalma saptanmıştır. 14. günde ise hirensiz probiyotikli ürün dışındaki tüm örneklerdeki küf sayısında artış görülmüştür. 21. günde geleneksel ve hiren içermeyen örneklerde azalma gözlenmiş, probiyotikli geleneksel üründe küf sayısı sabit kalmış, hiren içermeyen probiyotikli üründe ise küf sayısında artış saptanmıştır. 28. gün örneklerdeki küf sayısı ya azalmış yada sabit kalmış, 35. gün ise 4 numaralı örnek dışındaki tüm örneklerde küf sayısı belirleme limitinin altında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonuçları incelendiğinde örnekler arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı tespit edilmiştir. Probiyotik ilavesinin örneklerdeki küf ve maya sayısını etkilemediği görülmektedir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1.Olgunlaştırma periyodunda küf sayısındaki değişim.

Süre	Küf sayısı (log kob/g)			
	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün	Geleneksel probiyotikli ürün	Hiren içermeyen probiyotikli ürün
0	2,74±0,70 ^{a,A}	2,09±0,07 ^{a,A}	2,04±0,73 ^{a,A}	1,77±0,55 ^{a,A}
7.gün	1,60±0,33 ^{b,A}	1,77±0,49 ^{b,A}	1,39±0,12 ^{b,A}	1,39±0,28 ^{b,A}
14.gün	2,30±0,00 ^{c,A}	2,87±1,3 ^{c,B}	<1,3±0,00 ^{c,C}	<1,3±0,00 ^{b,C}
21.gün	1,69±0,49 ^{d,A}	<1,3±0,00 ^{d,B}	<1,3±0,00 ^{c,B}	3,69±1,90 ^{c,C}
28.gün	1,69±0,49 ^{d,A}	4,69±0,00 ^{e,B}	<1,3±0,00 ^{c,C}	4,69±0,00 ^{d,B}
35.gün	<1,30±0,00 ^{e,A}	<1,3±0,00 ^{d,A}	<1,3±0,00 ^{c,A}	4,69±0,00 ^{d,B}

Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

Olgunlaştırma periyodundaki maya sayısının değişimi incelendiğinde, başlangıç maya sayısı tüm örneklerde 2,17 ile 2,38 kob/g arasında saptanmıştır. Küf sayılarında olduğu gibi, 7. gün probiyotikli hirensiz örnek hariç tüm örneklerdeki maya sayısı azalma göstermiştir. 14. gün ise geleneksel ürün dışındaki tüm örneklerde maya sayısı artış göstermiştir (Şekil 4.1). Geleneksel üründe maya sayısında artış olmaması hirenin varlığı ile ilişkilendirilebilir. Aynı şekilde

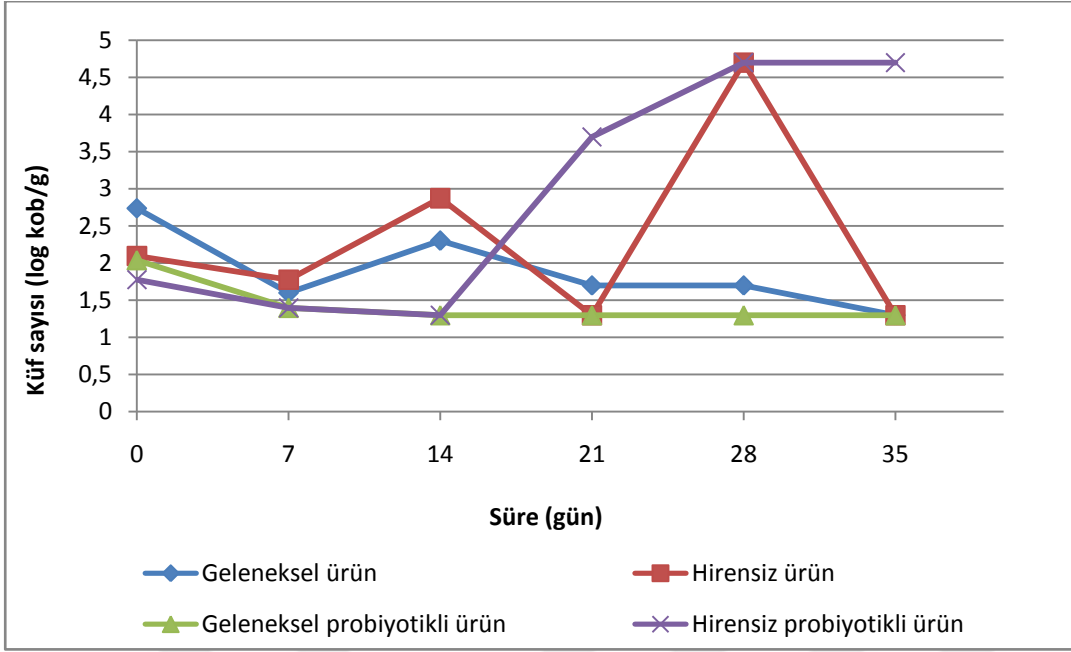
geleneksel probiyotik içeren örnekte de artış 0,1 log gibi çok düşük değerlerde kalmıştır. Fakat hiren içermeyen diğer iki örnekte 0,7 ve 2 log kadar artış görülmektedir. 21. gün hiren içermeyen örneklerdeki maya sayısı 5,88 ve 6,31 log değerlerine yükselirken hiren içeren geleneksel ve probiyotikli diğer iki örnekte maya sayısı 1,30 kob/g değerine kadar azalmıştır. 28. gün hiren içermeyen örneklerde maya sayısı artmaya devam etmiş, 35. gün az da olsa azalarak 6,59 kob/g ve 4,95 kob/g sayılarında saptanmıştır (Şekil 4.2). Hiren içeren geleneksel ve probiyotik ürünlerde ise 1,3 kob/g sayılarında maya saptanmıştır. Hiren içermeyen örneklerde maya sayıları istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($p<0,05$). Bu sonuç incelendiğinde hirenin gıdadaki maya gelişimini inhibe ettiği tespit edilmiştir.

Tablo 4.2 Olgunlaştırma periyodunda maya sayısındaki değişim.

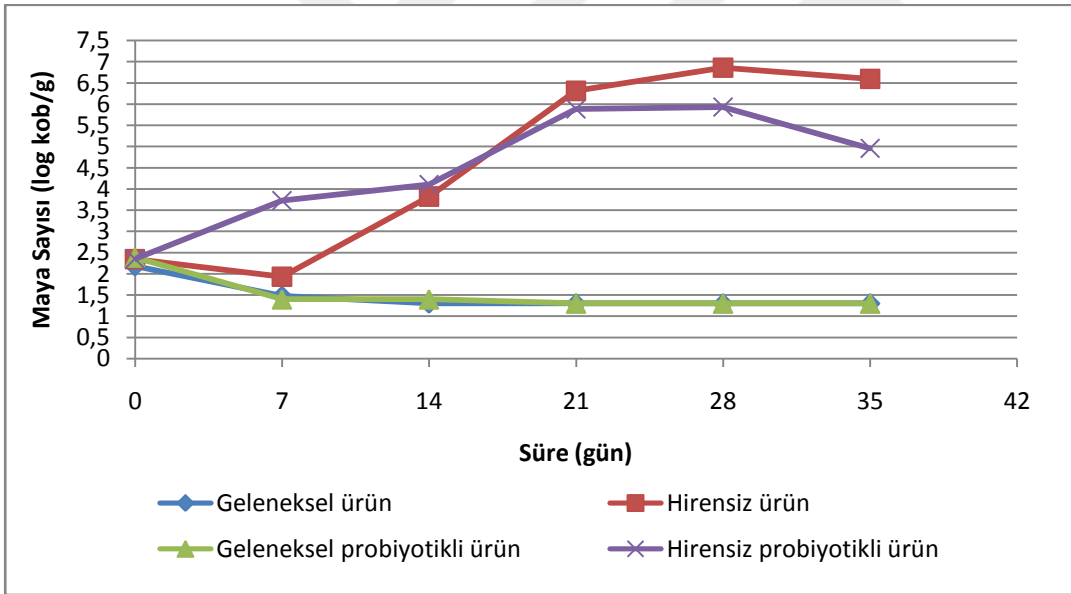
Süre	Maya Sayısı (log kob/g)			
	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün	Geleneksel probiyotikli ürün	Hiren içermeyen probiyotikli ürün
0	2,17±0,21 ^{a,A}	2,34±0,08 ^{a,A}	2,38±0,00 ^{a,A}	2,35±0,00 ^{a,A}
7. gün	1,47±0,00 ^{b,A}	1,92±1,30 ^{b,A}	1,39±0,12 ^{b,A}	3,72±0,83 ^{b,B}
14. gün	1,3±0,00 ^{c,A}	3,82±0,35 ^{c,B}	1,39±0,28 ^{b,A}	4,10±0,16 ^{c,C}
21. gün	<1,3±0,00 ^{c,A}	6,31±0,17 ^{d,B}	<1,3±0,00 ^{d,A}	5,88±0,28 ^{d,D}
28. gün	<1,3±0,00 ^{c,A}	6,85±0,23 ^{e,B}	<1,3±0,00 ^{d,A}	4,95±0,26 ^{d,C}
35. gün	<1,3±0,00 ^{c,A}	6,59±0,20 ^{f,B}	<1,3±0,00 ^{d,A}	4,95±0,68 ^{d,C}

Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$).

Hiren bitkisinin gıdalardaki mikrobiyal gelişimi engellemek amacıyla kullanıldığı bilinmektedir. Hiren kökünden elde edilen izotiyosiyanatların, tofunun raf ömrüne etkisinin incelendiği çalışmada, başlangıçta 2,50-3,50 kob/g olan mikrobiyal yük, 10 günlük depolama sonunda kontrol örneğinde 8,14 kob/g değerine yükselirken izotiyosiyanat içeren örnekte sadece 4,40 kob/g değerine yükselmiştir (Shin vd., 2010). Jung vd. (2009), hiren ekstraktı eklenmiş film kaplamasının domuz ve balık etinin oksidasyonuna etkisini incelemiş, kaplama yapılan örneklerde kontrol örneklerine göre daha düşük oksidasyon meydana geldiği saptanmıştır. Çalışmada kaplama yapılan örneklerin renk kaybının ve acılaştırmanın da kontrol örneğine kıyasla daha düşük olduğu vurgulanmıştır. Hiren ekstraktlarının *Penicillium notatum*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus* ve *Endomyces fibuliger*'e karşı inhibisyon etkisi incelenmiş, güçlü bir antifungal etki görüldüğü belirlenmiştir. Belirtilen türler üzerine minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum fungisidal konsantrasyonu (MFK) analizleri yapılmış, 100-200 µg/ml MİK değeri ve 200 µg/ml MFK değeri saptanmıştır. Aynı çalışmada hiren ekstraktının bakteri kültürlerine inhibisyon etkisi de incelenmiş, antifungal etkinin antibakteriyel etkiye göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Choi vd., 2017). Allil izotiyosiyanatların *Aspergillus flavus*, *Endomyces fibuliger*, *Penicillium commune*, *Penicillium corylophilum*, *Penicillium discolor*, *Penicillium palitans*, *Penicillium polonicum*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium solitum* ve *Pichia anomala* türlerine karşı antifungal etkisi bulunduğu raporlanmıştır (Nguyen vd., 2013). Arıcı ve Coşkun, (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, üzümün hardal tohumu ve benzoik asit ile birlikte fermente edilmesiyle elde edilen hardaliye içeceğinde, ürün olgunlaştırıldıktan sonra küf ve maya analizi yapılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde farklı örneklerde 10^2 ile 10^3 kob/ml arasında küf ve maya kolonisi olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin küf sayısındaki değişim.



Şekil 4.2 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin maya sayısındaki değişim.

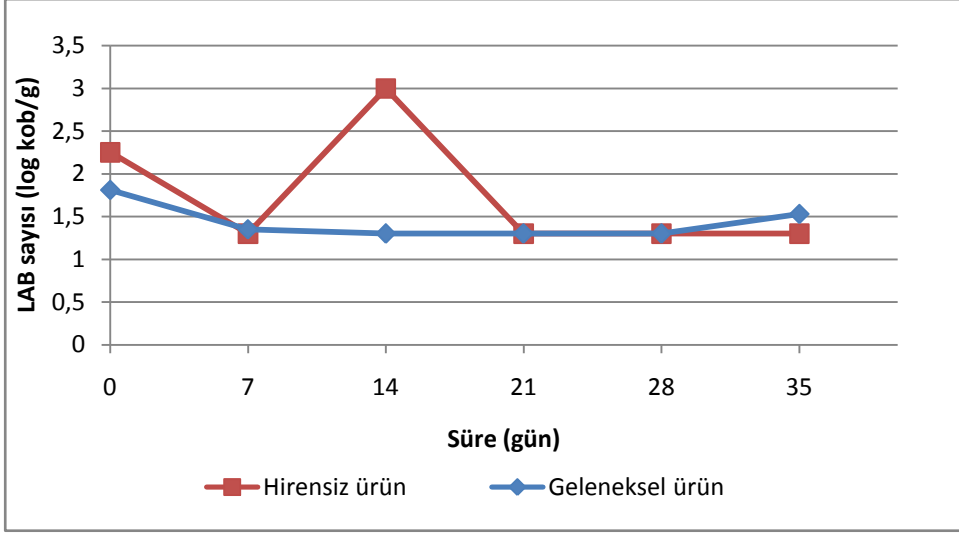
4.1.1.2 Toplam laktik asit bakterisi sayımı

Üretilen üzüm turşusu örneklerinin yapısında bulunan doğal laktik asit bakteri sayısının belirlenmesi amacıyla, geleneksel yöntemler ile üretilmiş ve hiren içermeyen üzüm turşusu örneklerinde (1 ve 2 numaralı probiyotik kültür içermeyen örnekler) toplam laktik asit bakteri sayıları belirlenmiştir (Tablo 4.3). Sonuçlar incelendiğinde 7. günden sonra önemli miktarda azalma olduğu görülmektedir. Laktik asit bakterilerinin 1 numaralı geleneksel üzüm turşusunda canlılığını bir hafta sürdürebildiği görülmektedir. 2 numaralı örnekte 14. günde LAB sayısında artış olsa da 21. günden itibaren LAB sayıları belirleme limitinin altında bulunmuştur (Şekil 4.3). Laktik asit bakteri sayısındaki değişim bakımından iki örnek grubu arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.3 Olgunlaştırma periyodunda toplam laktik asit bakterisi sayısının değişimi.

Süre	Toplam laktik asit bakterisi sayısı (log kob/g)	
	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün
0	1,81±0,10 ^{a,A}	2,25±0,50 ^{a,A}
7.gün	1,35±0,63 ^{b,A}	<1,3±0,00 ^{b,A}
14.gün	<1,30±0,00 ^{c,A}	3,00±1,41 ^{c,A}
21.gün	<1,3±0,00 ^{c,A}	<1,3±0,00 ^{b,A}
28.gün	<1,30±0,00 ^{c,A}	<1,30±0,00 ^{b,A}
35.gün	1,53±0,37 ^{d,A}	<1,3±0,00 ^{b,A}

Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$).



Şekil 4.3 Olgunlaştırma periyodunda örneklerdeki LAB sayısının değişimi.

Üzüm turşusu ile ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Üzümden üretilen diğer bir geleneksel ürün olan hardaliye ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır. Arıcı ve Coşkun, (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, üzümün hardal bitkisi ve benzoik asit ile birlikte fermente edilmesiyle elde edilen hardaliye içeceği üretilmiş, ürün olgunlaştırıldıktan sonra mikrobiyolojik kalitesi incelenmiştir. Farklı örneklerde toplam laktik asit bakterisi sayısı 35 kob/ml ile 10^4 kob/ml arasında saptanmıştır. Laktik asit bakteri sayısının düşük olması, ürünün pH değerlerinin 3,21-3,97 civarında olması ile ilişkilendirilmiştir. Ticari portakal, elma ve üzüm suyu örneklerine *Lactobacillus* spp. inoküle edilmiş, 8., 24. ve 48. saatlerde sayım alınmıştır. Elma suyunda, portakal ve üzüm suyuna göre daha fazla *Lactobacillus* spp. gelişimi görülmüştür (Espirito-Santo vd., 2015). Ananas suyuna, *L.casei* ve *L.rhamnosus* inoküle edilmiş, 28 gün boyunca 4°C 'de saklanmış, 7 gün aralıklar ile meyve suyundaki mikroorganizma sayısı belirlenmiştir. Başlangıçta 7,8 log sayısındaki *L.casei* 28 gün sonunda 5,22 log, 7,73 log olan *L.rhamnosus* 4,74 log olarak saptanmıştır (Ghafari ve Ansari, 2018). Garcia vd (2018) tarafından yapılan çalışmada, liyofilize *L.plantarum* 49, *L.brevis* 59, *L.paracasei* 108, *L.fermentum* 111 and *L.pentosus* 129 suşları ticari elma, portakal ve üzüm sularına inoküle edilmiş, 4°C 'de 21 gün depolanmış, bu süre boyunca suşları gelişme oranı incelenmiştir. En yüksek gelişme oranı elma suyunda gözlenmiştir. Elma suyunda tüm suşlarda

14 güne kadar 0,75'ten daha fazla gelişme oranı gözlenmiş, 21. günde 0,60-0,65 sayılarına düşmüştür. Portakal ve üzüm suyunda ise bazı suşlar 14 güne kadar 0,75 oranında gelişme gösterirken bazı suşlar 7 güne kadar gelişme gösterebilmiştir. Üzüm suyunda 21.günde 0,55-0,65 arasında gelişme oranı gözlenmiştir. En yüksek gelişme oranı *L.paracasei* 108 suşunda saptanmıştır.

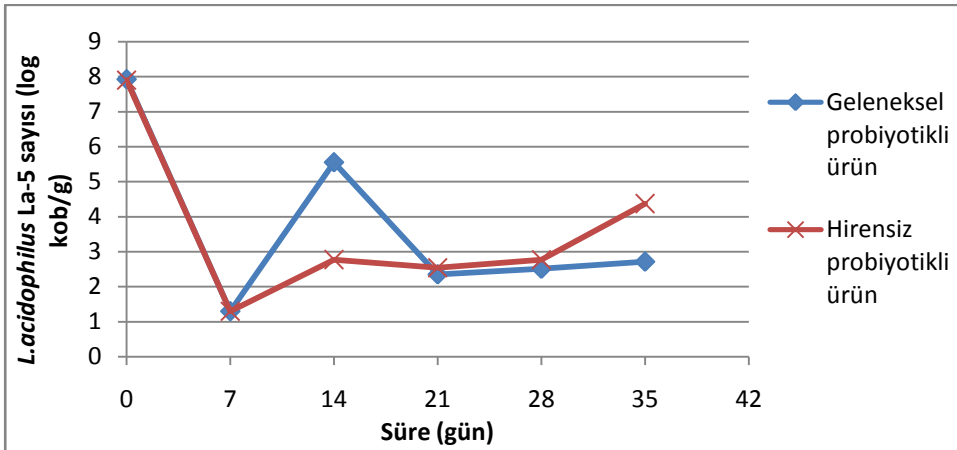
4.1.1.3 *L. acidophilus* sayımı

L. acidophilus sayısı probiyotik içeren geleneksel ve hiren içermeyen probiyotikli örneklerde analiz edilmiştir (Tablo 4.4). Sonuçlar incelendiğinde *L. acidophilus* sayısının 7.günde 1,3 log değerine kadar azalma gösterdiği görülmektedir. Üzüm turşusuna inoküle edilen *L.acidophilus* sayısının 7. günde belirleme limitinin altında olması, suşun ortam koşullarından etkilenerek canlılığını kaybettiği yada canlı fakat kültüre edilemeyen forma geçtiği olarak yorumlanabilir. 14. gün *L.acidophilus* sayısı artarak 2,7 ve 5,5 log civarında saptanmıştır. Buradaki artış, suşun ortama adaptasyon sağlamasından kaynaklanıyor olabilir. 21. gün tekrar azalma göstermiştir. 28. gün az miktarda artış göstermiş, 35. gün ise 2,71 ve 4,37 log sayısında *L.acidophilus* saptanmıştır. Hiren içermeyen probiyotikli örnekte ilk haftalarda koloni sayısı daha hızlı azalsa da, 35.gün sonunda hiren içeren örneğe göre daha yüksek sayıda probiyotik gözlenmiştir (Şekil 4.4). Bu farklılık istatistiksel açıdan da anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Gıdadaki yüksek briks değerlerinin (60) *L.acidophilus* La-5 suşunun gelişimine elverişli olmadığı saptanmıştır. *L.acidophilus* La-5 sayısı, başlangıç anında (0. gün) probiyotik ilavesi içermeyen üzüm turşusu örneklerinde de analiz edilmiş, geleneksel ve hiren içermeyen örneklerde sırasıyla 2,05 ve 2,72 log kob/ml düzeyinde *L.acidophilus* La-5 saptanmıştır. Bir gıdanın probiyotik özellik gösterebilmesi için içerisinde en az 10^6 kob/ml probiyotik bulundurması gerekmektedir (Nualkaekul vd., 2012; Kechagia vd., 2013). Çalıştığımız gıdanın bu değeri sağlayamadığı görülmektedir. Enkapsülasyon teknikleri ile probiyotiklerin düşük asitli gıdalarda ve intestinal sistemde canlılığını uzun süre koruması mümkün olmaktadır (Anal ve Singh, 2007).

Tablo 4.4 Olgunlaşma periyodunda *L. acidophilus* La-5 sayısındaki değişim

Süre	<i>L.acidophilus</i> La-5 sayısı (log kob/g)	
	Geleneksel probiyotikli ürün	Hiren içermeyen probiyotikli ürün
0	7,92±0,00 ^{a,A}	7,90±0,00 ^{a,A}
7.gün	<1,30±0,00 ^{b,A}	<1,30±0,00 ^{b,A}
14.gün	5,55±2,33 ^{c,A}	2,77±0,75 ^{c,B}
21.gün	2,35±0,18 ^{d,A}	2,54±0,28 ^{c,A}
28.gün	2,51±0,10 ^{e,A}	2,77±0,40 ^{c,A}
35.gün	2,71±0,50 ^{f,A}	4,37±0,51 ^{e,B}

Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır (p<0.05).

Şekil 4.4 Olgunlaştırma periyodunda örneklerdeki *L.acidophilus* La-5 sayısındaki değişim.

Malganji vd. (2016), üzüm suyunda 4 hafta boyunca 4°C'de *L. plantarum*, *L. rhamnosus* ve *L. delbrueckii*'nin canlılığını araştırmış, *L. delbrueckii* ve *L. plantarum* depolama sonunda yaklaşık 1 log azalma göstermiştir. Portakal suyunda (pH:3,8) *L. acidophilus* serbest halde 4°C ve 25°C'de canlılığını sürdürememiş, düşük pH değerlerine hassas olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, çalışmada suş aljinat kaplı şekilde de portakal suyuna inoküle edilmiş, 3 log *L. acidophilus* saptanmıştır. Aynı çalışmada *L. rhamnosus* suşu da kullanılmış, serbest ya da enkapsüle formdaki suş 35 gün boyunca başlangıç değerini koruyabilmiştir. Probiyotik ve gıda matrisi etkileşiminin suşa spesifik olduğu vurgulanmıştır (Sohail vd., 2012). Nazzaro vd. (2009), havuç suyunu *L. acidophilus* ile fermente etmiş, başlangıç inokulum değeri olan 10⁷ kob/ml, 8 haftalık depolama sonunda 10⁸ kob/ml değerinde kalmıştır. Havuç suyunda probiyotik *L. acidophilus*'un sayısı soğuk depolama boyunca azalma göstermemiştir. Ticari portakal ve şeftali sularına *L. paracasei* inoküle edilmiş, *L. paracasei* bu meyve sularının düşük pH değerlerine rağmen 50 güne kadar 5°C'de canlılığını sürdürmüştür (Rodrigues vd., 2012). *L. acidophilus* farklı meyveler ile fermente edilmiş, üzüm suyunda (pH:3) 4 hafta sonunda 3 log kob/ml değerlerinde saptanmıştır (Mohan vd., 2013). *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* ve *L. delbrueckii* ile fermente edilen domates sularında bu suşların canlılığı incelenmiş, 4 haftalık depolama süresince *L. acidophilus* 10⁹ kob/ml değerlerinde canlılığını sürdürebilmiş ve gıdanın pH'ını 3,5 değerine kadar düşürmüştür (Yoon vd., 2004).

Açerola meyve suyuna mikroenkapsüle şekilde *B. lactis* eklenmiş, enkapsüle suş içeren örnekte, serbest suş içeren örneğe göre daha fazla sayıda *B. lactis* saptanmıştır. Enkapsüle formda meyve suyunun pH'ı serbest formdakine ve kontrol örneğine göre daha yüksek bulunmuştur. Enkapsülasyonun hem probiyotik canlılığını koruduğu hem de gıdadaki pH düşmesini yavaşlattığı belirlenmiştir (Antunes vd., 2013). *L. plantarum* içeren nar suyunda serbest haldeki suş, 4 haftada canlılığını kaybederken, aljinat kaplı haldeki suş 6 hafta boyunca 5,5 log değerinde canlılığını korumuştur (Nualkaeul vd., 2012). Portakal suyunda *L. acidophilus* sayısı serbest halde 3 haftada 8 log değerinden 5 log değerine azalırken, enkapsüle şekli ile 3 haftada 7 log değerinde saptanmış, 6 haftada ise 5 log değerine düşmüştür. Elma suyunda ise *L. acidophilus* sayısı

serbest halde 4 haftada 2 log'a kadar düşerken, mikroenkapsüle halde 6 haftada 5,5 log değerinde saptanmıştır. Ayrıca, portakal suyunun pH değeri enkapsüle suş içeren örnekte 6 haftada 2,8'den 2,7'ye azalırken, serbest formda suş içeren örnekte 2,5'e kadar azalma görülmüştür. Elma suyunun pH değişimlerinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir (Ding ve Shah, 2008).

Randazzo vd., (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, ticari şeftali reçelinde ve sentetik şeftali ortamında farklı *L. rhamnosus* suşlarının canlı kalma durumu araştırılmıştır. Bütün suşlar ticari şeftali reçelinde daha iyi canlılık göstermiş, 78 günlük depolama süresinin sonuna kadar 6 log değerlerinde canlılıklarını korumuştur.

Hut ve Ayar (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, incir uyutması tatlısında farklı probiyotik türlerin canlı kalma durumu incelenmiş, probiyotik *L. acidophilus*'un 6 log civarında canlılığını koruduğu belirlenmiştir. Ancak başlangıçtaki 8 log birimlik sayı depolama süresi boyunca 6 log değerlerine kadar azalmıştır. İncir uyutması süt ile yapılan bir tatlıdır, probiyotikler süt ve süt ürünleri içeren gıda matrikslerinde daha iyi gelişim gösterdiğinden, 6 log değerlerinde canlılık görülmesinin sebebi bununla ilişkilendirilebilir. Bir başka çalışmada, hurma ekstraktı eklenmiş süt, *L. acidophilus* La-5 ile fermente edilmiş, hurma ekstraktı eklenmesi, *L. acidophilus* La-5 sayısının başlangıç değeri 8 log'dan 6 log'a azalmasına neden olmuştur (Abdollahzadeh vd., 2018). Akçaağaç şurubuna probiyotik *B.lactis* ve *L.rhamnosus* suşları 8 log değerinde inoküle edilmiş, bu değer 4°C'de 28 günlük depolama süresince sabit kalmıştır (Khalf vd., 2010).

4.1.2 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının depolanması sırasında mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi

4.1.2.1 Küf ve maya sayımı

5 aylık depolama süresi boyunca tüm üzüm turşusu örneklerdeki küf ve maya sayısı incelenmiştir (Tablo 4.5). 1. ayda 1,3 kob/g olan küf sayısı 2. ay hiren içermeyen örnekte 2,8 log değerine kadar artış göstermiştir. Aynı örnekte üçüncü ve dördüncü ay 1,3 log sayıda küf gözlenirken, beşinci ay sonunda küf sayısı artarak 1,6 log sayısında saptanmıştır. Hiren içermeyen probiyotikli üründe üçüncü ay 2,15 log sayıda küf gözlenmiş, beşinci ay sonunda 1,3 log değerinde kalmıştır. Geleneksel ve probiyotik içeren geleneksel üründe küf sayısı birinci aydan beşinci ay sonuna kadar 1,3 log değerinde kalmıştır (Şekil 4.5). Depolama süresi boyunca genel olarak bakıldığında küf sayısının hiren içeren örneklerde sabit kaldığı, hiren içermeyenlerde ise değişken bir çizgi izlediği görülmektedir. Bu sonuç, hirenin gıda koruyucusu olarak kullanım potansiyeli olmasını destekler niteliktedir. Depolama süresi sonunda gruplar arasında küf sayısı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.5 Depolama periyodunda küf sayısındaki değişim.

Süre	Küf Sayısı (log kob/g)			
	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün	Geleneksel probiyotikli ürün	Hiren içermeyen probiyotikli ürün
Başlangıç	1,3±0,00 ^{a,A}	1,3±0,00 ^{a,A}	1,3±0,00 ^{a,A}	1,30±1,35 ^{a,A}
1. ay	1,30±0,00 ^{a,A}	<1,3±0,00 ^{a,A}	1,3±0,00 ^{a,A}	1,3±0,00 ^{a,A}
2. ay	1,30±0,007 ^{a,A}	2,8±2,5 ^{b,B}	1,3±0,00 ^{a,A}	<1,3±0,00 ^{a,A}
3. ay	1,30±0,00 ^{a,A}	1,3±0,00 ^{a,A}	1,3±0,00 ^{a,A}	2,15±1,20 ^{b,B}
4. ay	1,30±0,00 ^{a,A}	1,3±0,00 ^{a,A}	1,3±0,00 ^{a,A}	1,3±0,00 ^{a,A}
5. ay	<1,30±0,00 ^{a,A}	1,6±0,21 ^{a,A}	<1,3±0,00 ^{a,A}	<1,3±0,00 ^{a,A}

Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

Maya sayıları 1. ayda hiren içeren örneklerde 1,3 log iken, hirensiz örneklerde 3,47 ve 3,98 log olarak saptanmıştır (Tablo 4.6). Geleneksel üründe beşinci ay sonuna kadar 1,3 log değerinde sabit kalan maya sayısı, geleneksel probiyotikli üründe yalnızca 2. ay artış göstermiş, 3. aydan beşinci ay sonuna kadar 1,3 log değerinde kalmıştır. Hirensiz içermeyen probiyotikli üründeki maya sayısı ilk aydan itibaren azalan bir grafik çizmiş, beşinci ay sonunda 1,3 log

değerinin altına kadar düşmüştür. Hiren içermeyen geleneksel üründe ise maya sayısının değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Bu örnekte beşinci ay sonunda maya sayısı 4,9 log olarak saptanmıştır (Şekil 4.6).

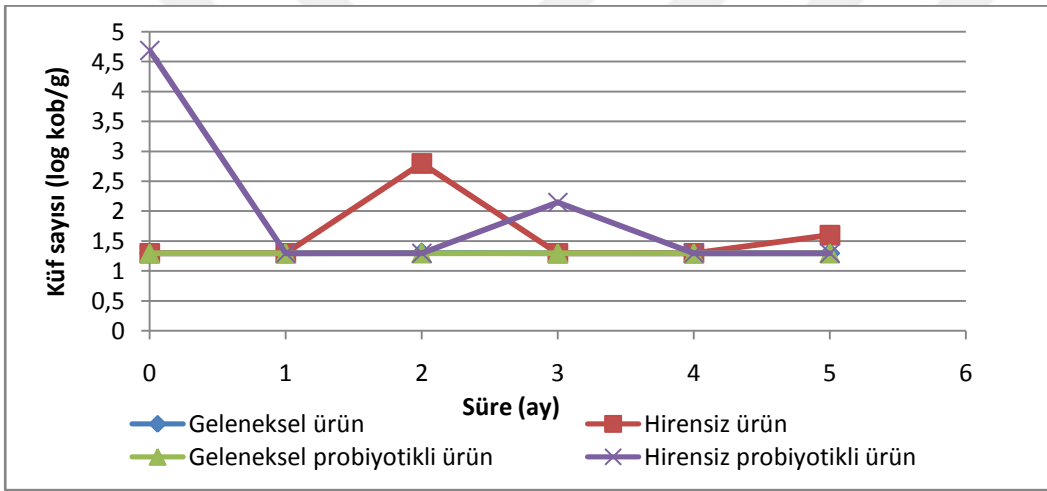
Tablo 4.6 Depolama periyodunda maya sayısındaki değişim.

Süre	Maya sayısı (log kob/g)			
	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün	Geleneksel probiyotikli ürün	Hiren içermeyen probiyotikli ürün
Başlangıç	1,3±0,00 ^{a,A}	6,59±0,79 ^{a,B}	<1,3±0,42 ^{b,A}	4,95±1,60 ^{a,B}
1. ay	1,3±0,00 ^{a,A}	3,47±3,07 ^{b,B}	1,30±0,00 ^{b,A}	3,98±1,43 ^{b,B}
2. ay	1,3±0,00 ^{a,C}	6,13±0,23 ^{c,A}	1,45±0,21 ^{a,C}	3,26±0,30 ^{b,B}
3. ay	1,3±0,00 ^{a,C}	6,43±0,88 ^{d,A}	1,3±0,00 ^{b,C}	3,30±0,42 ^{b,B}
4. ay	1,3±0,00 ^{a,B}	4,74±0,14 ^{e,A}	1,3±0,00 ^{b,B}	1,58±0,29 ^{c,B}
5. ay	1,3±0,00 ^{a,B}	4,90±0,13 ^{f,A}	1,3±0,00 ^{b,B}	<1,3±0,63 ^{c,B}

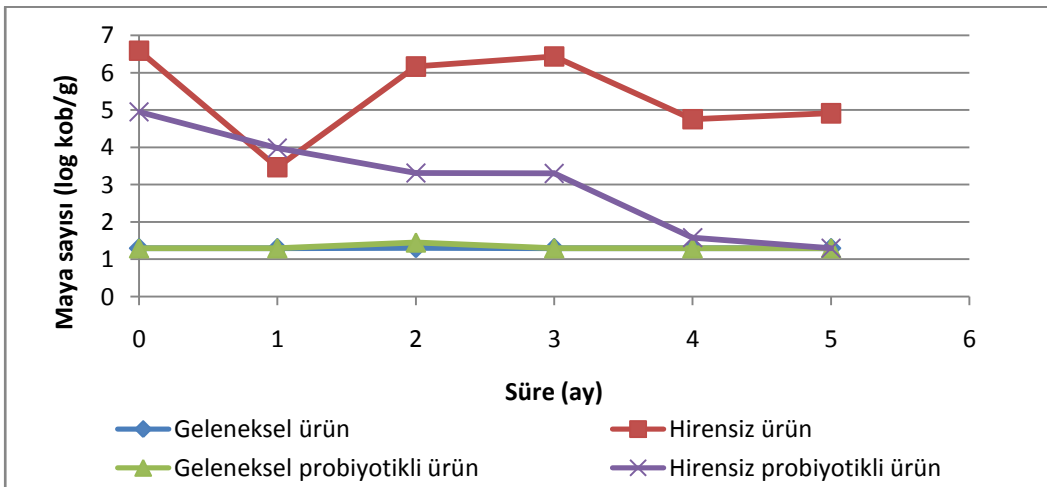
Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

Depolama süresi boyunca hiren içeren geleneksel ürün ve probiyotik içeren geleneksel üründeki küf ve maya sayılarının sabit bir trend çizdiği görülmektedir, Beş aylık depolama süresi sonunda belirleme limitinin altında kalan küf ve maya sayısı, geleneksel üzüm turşusunun küf ve maya sayısı bakımından güvenilir bir gıda olduğunu göstermektedir. Aynı şekilde probiyotik içeren geleneksel ürünün de güvenilir bir gıda olduğu, probiyotiğin üzüm turşusundaki küf ve maya sayılarını olumsuz şekilde etkilemediği anlaşılmaktadır.

Meyveler yüksek miktarda şeker ve diğer besin öğelerini içermektedir. Düşük pH değerleri de meyveleri küf kaynaklı bozulmalara açık hale getirmektedir. Kırmızı, yeşil ve siyah üzümün çekirdekli ve çekirdeksiz türleri toplandıktan sonra 14 gün boyunca oda koşullarında depolanmış, üzümdeki maya ve küf gelişimi incelenmiştir. Üzüm türlerinin %35'inde küf gelişimi gözlenmiştir (Tournas ve Katsoudas, 2005). Tournas vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada, farklı ticari meyve suyu örneklerindeki sayısı incelenmiştir. Meyve suları marketlerden alındıktan sonra 24 saat boyunca 4°C'de bekletilmiş, 24 saat sonunda analiz edilmiştir. Tüm örneklerdeki maya sayıları 2 log kob/ml ile 5,28 log kob/ml arasında saptanmıştır. Üzüm suyu örneğinde maya sayısının ise 1 kob/ml'den daha az olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.5 Depolama periyodunda üzüm turşusu örneklerindeki küf sayısının değişimi.



Şekil 4.6 Depolama periyodunda üzüm turşusundaki maya sayısının değişimi.

4.1.2.2 Toplam laktik asit bakterisi sayımı

Depolama süresi boyunca probiyotik ilave edilmemiş geleneksel veya hiren içermeyen üzüm turşusu örneklerinde laktik asit bakteri sayımı yapılmıştır. 1. ve 2. aylardaki analiz sonucunda petrilere koloni görülmemiştir. 2. aydan sonra LAB sayımı yapılmamıştır.

Tablo 4.7 Depolama periyodunda LAB sayısının değişimi.

Süre	LAB sayısı (log kob/g)	
	Geleneksel ürün	Hiren ürün içermeyen
1. ay	<1,3	<1,3
2. ay	<1,3	<1,3

Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p < 0.05$).

4.1.2.3 *Lactobacillus acidophilus* La-5 sayıları

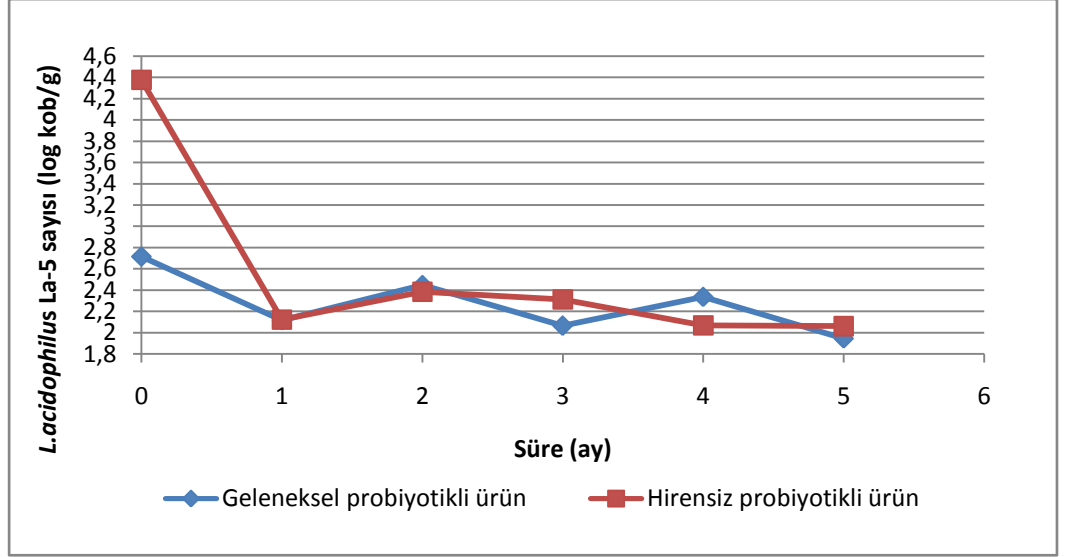
Beş aylık depolama süresince her ay geleneksel probiyotikli örnekte ve hiren içermeyen probiyotikli örnekte *L.acidophilus* La-5 analizi yapılmıştır (Tablo 4.8). Birinci ayda geleneksel probiyotikli ve hirsiz probiyotikli örneklerde sırası ile 2,12 log ve 2,29 log olan *L.acidophilus* La-5 sayısının beşinci ay sonunda sırası ile 1,94 ve 2,06 log değerlerine düştüğü görülmüştür (Şekil 4.7). İstatistiksel açıdan iki grup arasında *L.acidophilus* La-5 sayısı bakımından bir fark tespit edilmemiştir ($p > 0,05$). *L.acidophilus* La-5'in üzüm turşusunda gelişiminin üzüm turşusundaki yüksek şeker miktarından etkilendiği düşünülmektedir. Champagne ve Gardner (2008) tarafından yapılan çalışmada, ticari karışık meyve sularına *L. acidophilus* LB2, *L. acidophilus* LB3, *L. rhamnosus* LB11, *L. fermentum* LB32, *L. reuteri* LB38, *L. plantarum* LB42 suşları ayrı örneklere inoküle edilmiş, 4°C'de depolamaya bırakılmıştır. Meyve sularındaki laktobasili

sayıları 80 güne kadar analiz edilmiştir. Başlangıçta 10^7 kob/ml olan mikroorganizma sayıları, *L. rhamnosus* LB11 *L. fermentum* LB32, *L. reuteri* LB38, *L. plantarum* LB42 suşlarında 80 güne kadar 10^6 kob/ml sayısında canlılığını korumuştur. *L.acidophilus* suşlarında ise 40. güne kadar 10^6 kob/ml düzeylerinde, 80. gün sonunda ise 10^2 kob/ml'ye kadar azalmıştır. Ayrıca maksimum gelişme eğrisi incelendiğinde en az gelişme *L.acidophilus* LB2 ve *L.acidophilus* LB3 suşlarında gözlenmiştir.

Tablo 4.8 Depolama periyodunda üzüm turşusundaki *Lactobacillus acidophilus* La-5 sayısının değişimi.

<i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 sayısı (log kob/g)					
Depolama süresi	Geleneksel ürün	probiyotikli Hiren ürün	çermeyen	probiyotikli	
Başlangıç	2,71±0,28 ^{a,A}		4,37±0,90 ^{a,B}		
1.ay	2,11±0,19 ^{b,A}		2,12±0,10 ^{c,A}		
2.ay	2,44±0,03 ^{a,A}		2,38±0,10 ^{b,A}		
3.ay	2,06±0,05 ^{b,A}		2,31±0,04 ^{b,A}		
4.ay	2,33±0,07 ^{a,A}		2,06±0,06 ^{c,A}		
5.ay	1,94±0,01 ^{c,A}		2,06±0,10 ^{c,A}		

Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$).



Şekil 4.7 Depolama periyodunda üzüm turşusu örneklerindeki *L.acidophilus* La-5 sayısının değişimi.

Buriti vd. (2007), tarafından yapılan çalışmada, farklı mus örneklerine *Lactobacillus acidophilus* La-5 suşu inoküle edilmiş ve suşun canlı kalma durumu araştırılmıştır. Örnekler; çarkıfelek meyvesi suyu, inülin içeren çarkıfelek meyvesi suyu, pastörize edilip dondurulmuş çarkıfelek pulpu, pastörize edilip dondurulmuş guava pulpu, laktik asit ilaveli pastörize edilip dondurulmuş guava pulpu olarak hazırlanmıştır. Örnekler farklı depolama sürelerinde *L.acidophilus* sayısı ve pH değerleri bakımından analiz edilmiştir. Çarkıfelek meyvesi suyunda başlangıç *L.acidophilus* sayısı 7,28 log iken 21 günlük 4°C depolama süresi sonunda 4.09 log sayısına azalmıştır. İnülin içeren çarkıfelek meyvesi suyunda başlangıç *L.acidophilus* sayısı 6,51 log iken, 21 günlük 4°C depolama süresi sonunda 1,78 log sayısına kadar düşmüştür. Aynı örnek -18°C’de 69 gün depolanmış, başlangıçta 6.74 log olan *L.acidophilus* sayısında fazla azalma görülmemiş, 69 gün sonunda 6,35 log sayısında saptanmıştır. Depolama sıcaklığının *L.acidophilus* sayısındaki değişimde önemli olduğu anlaşılmaktadır. Pastörize edilip dondurulan çarkıfelek pulpunda da 4°C’de 21 gün depolama sonunda *L.acidophilus* sayısı 6,64 log’dan 2,45 log seviyesine düşmüştür. Tropikal iklimlerde yetişen çarkıfelek meyvesinin *L.acidophilus* gelişimi için uygun bir ortam olmadığı anlaşılmaktadır. Yine tropikal iklim meyvesi olan guava pulpu örneklerinde ise *L.acidophilus* iyi bir gelişim göstermiştir. İki guava pulpu örneğinde de 4°C ve -18°C depolama

süresi sonunda 6 logdan fazla *L.acidophilus* sayısı gözlenmiştir. Porto vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada, 1:1 ve 1:2 oranında pancar portakal suyu karışımı hazırlanmış, 70°C’de, 30 dk pastörize edilmiştir. Liyofilize *Lactobacillus acidophilus* La-5 kültürü karışıma %0,2 oranında ilave edilmiştir. Karışım 4°C’de 28 gün boyunca depolanmış; 1, 7, 21, 14 ve 28. günlerde analiz edilmiştir. 28 gün sonunda hem 1:1 hem 1:2 oranlı karışımda *L.acidophilus* sayısı 9 log değerinden yüksek sayıda saptanmıştır. Yüksek canlı kalma durumu portakal suyundaki yüksek malik asit, sitrik asit ve liflerin *L.acidophilus* canlılığını geliştirmesi olarak yorumlanmıştır. *L.acidophilus*’un sitrik asidi metabolize edebileceği, portakal suyundaki C vitamininin ortamdaki çözünmüş oksijen miktarını azaltabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, pancardaki betalain, fenolik bileşenler ve antioksidan aktivitesinin bakterinin maruz kaldığı oksijenin etkilerini azaltmış olabileceği vurgulanmıştır. Vasconcelos vd. (2014), tarafından yapılan çalışmada, açai meyvesi pulpu dondurulmuş ve guarana şurubu ve çeşitli emülsifiye edici bileşenlerin katkısı ile donmuş açai tatlısı elde edilmiştir. Bu tatlıya liyofilize *Lactobacillus acidophilus* La-5 inoküle edilmiş, dondurma makinesi kullanılarak tüm karışım -15°C’de 15 dk karıştırılmıştır. Tatlı karışımı daha sonra parçalara ayrılarak -18°C depolamaya bırakılmıştır. 1, 7, 14, 21, 28, 56 ve 84. günlerde analiz edilmiştir. Donmuş açai tatlısında başlangıçtaki sayısı 7,5 log olan *L.acidophilus* La-5, 84. güne kadar 7 log sayısında canlılığını koruyabilmiştir.

4.1.3 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının olgunlaştırma ve depolama süresince kimyasal özelliklerinin belirlenmesi

4.1.3.1 pH Değeri

Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşusu örneklerinin başlangıçta 5,5 olan pH değeri 35 günlük olgunlaştırma süresince haftada 1 defa, 5 aylık depolama süresince ayda 1 defa tespit edilmiştir. Olgunlaştırma ve depolama sürelerinin sonunda, örneklerin pH değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0,05$) (Tablo 4.9). 5 aylık depolama süresi sonunda tüm örneklerin pH değerleri 4,80-4,82 arasında saptanmıştır (Şekil 4.9). Yapılan bir çalışmada, *L. acidophilus* portakal suyunda başlangıç pH değerini 35 gün sonunda 3,80’den 3,58 değerine düşürmüştür. Enkapsüle haldeki suş ise pH’ı 3,62 değerine

düşürmüştür. Enkapsülasyonun gıdanın pH değerindeki azalmayı yavaşlattığı ifade edilmiştir. Yüksek asitliğe hassas türler için enkapsülasyon uygulamaları uygun bir yöntem olarak görülmektedir (Sohail vd., 2012). Başlangıç pH'ı 6 değerine ayarlanmış olan armut suyunun *L. acidophilus* ile 24 saatlik fermentasyonu sonunda pH'ı 3.8 değerine düşmüş ve bu değerinde sabit kalmıştır (Ankolekar vd., 2012). Havuç suyunda serbest formdaki *L. acidophilus* 8 hafta sonunda pH'ı 5,79'den 3.37 değerine düşürmüştür (Nazzaro vd., 2009). Suşun gıdadaki aktivitesinin gıda matrisi ile doğrudan ilişkili olduğu anlaşılmaktadır. Miranda vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, portakal suyuna probiyotik *L. casei* inoküle edilmiş, portakal suyundaki reolojik ve kimyasal özelliklerin değişimi incelenmiştir. *L.casei* varlığı, 3,80 değerlerindeki pH'ta değişiklik meydana getirmemiştir. Bu çalışmada pH'ın sabit kalma sebebinin, portakal suyunun yüksek tampon özelliğinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Pakbin vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada, şeftali suyuna *L.casei*, *L. plantarum* ve *L.delbrueckii* suşları inoküle edilmiştir. Bütün suşlar, pH'ı başlangıç 4,4 değerinden 3,9 değerlerine düşürmüştür. Nualkaekul vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, 4°C'de 6 hafta boyunca probiyotik *B.longum*'un çilek, portakal, greyfurt, ananas, nar ve kuş üzümü suyunda canlı kalma durumu araştırılmıştır. En fazla pH değişimi ananas suyunda meydana gelmiş, pH 3,72 değerinden 3,62 değerine azalmıştır. Nar suyunda ise başlangıçta 3,33 olan pH 6 hafta boyunca bu değerinde kalmıştır.

Tablo 4.9 Olgunlaşma periyodunda pH değerlerindeki değişim.

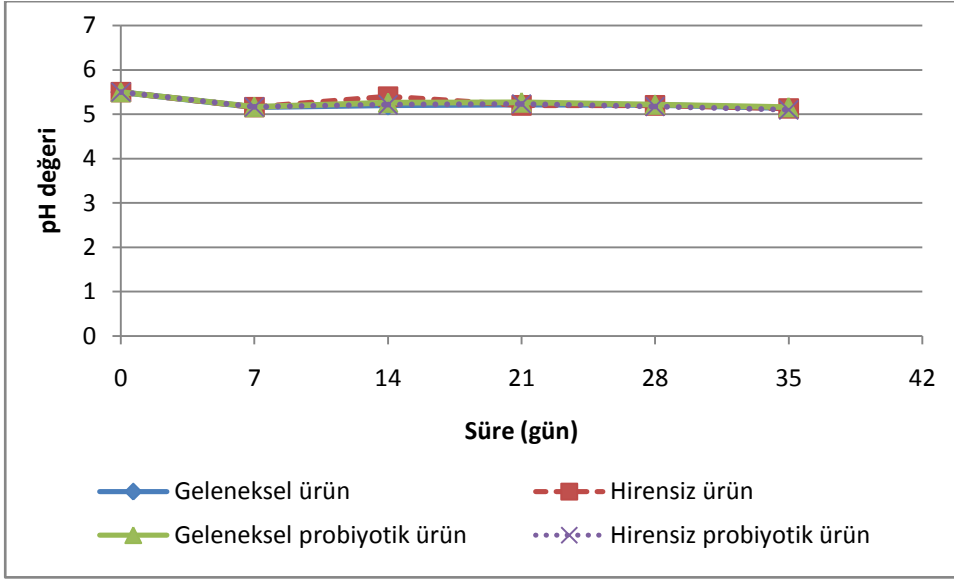
Süre	pH değeri			
	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün	Geleneksel probiyotikli ürün	Hirensiz probiyotikli ürün
0.gün	5,5±0,00 ^{a,A}	5,5±0,00 ^{a,A}	5,5±0,00 ^{a,A}	5,5±0,00 ^{a,A}
7.gün	5,16±0,01 ^{b,A}	5,16±0,00 ^{b,A}	5,16±0,00 ^{b,A}	5,16±0,03 ^{b,A}
14.gün	5,20±0,02 ^{b,A}	5,14±0,06 ^{b,B}	5,26±0,00 ^{c,C}	5,21±0,00 ^{b,A}
21.gün	5,22±0,01 ^{b,A}	5,20±0,03 ^{b,A}	5,26±0,00 ^{c,A}	5,23±0,01 ^{b,A}
28.gün	5,21±0,02 ^{b,A}	5,20±0,04 ^{b,A}	5,21±0,04 ^{c,A}	5,17±0,00 ^{b,A}
35.gün	5,14±0,04 ^{c,A}	5,13±0,06 ^{c,A}	5,16±0,01 ^{b,A}	5,10±0,07 ^{c,A}

Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

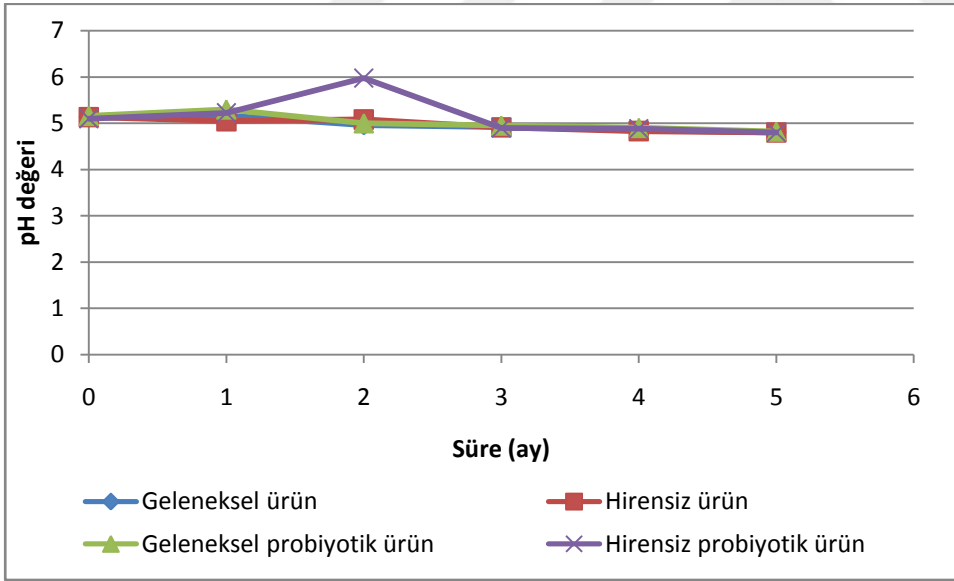
Tablo 4.10 Depolama periyodunda pH değerlerindeki değişim.

Süre	pH değeri			
	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün	Geleneksel probiyotikli ürün	Hirensiz probiyotikli ürün
Başlangıç	5,14±0,04 ^{b,A}	5,13±0,06 ^{a,A}	5,16±0,01 ^{a,A}	5,10±0,07 ^{a,A}
1.ay	5,17±0,065 ^{b,A}	5,04±0,007 ^{b,B}	5,30±0,056 ^{b,C}	5,22±0,106 ^{b,A}
2.ay	4,96±0,007 ^{c,A}	5,08±0,254 ^{b,B}	5,00±0,049 ^{c,A}	4,97±0,007 ^{c,A}
3.ay	4,92±0,00 ^{c,A}	4,91±0,056 ^{c,A}	4,95±0,042 ^{c,A}	4,90±0,021 ^{c,A}
4.ay	4,85±0,028 ^{c,A}	4,82±0,056 ^{c,A}	4,90±0,00 ^{c,A}	4,88±0,021 ^{c,A}
5.ay	4,80±0,007 ^{c,A}	4,79±0,035 ^{c,A}	4,82±0,00 ^{c,A}	4,80±0,00 ^{c,A}

Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$).



Şekil 4.8 Olgunlaştırma periyodunda üzüm turşusu örneklerinin pH değerlerindeki değişim.



Şekil 4.9 Depolama periyodunda üzüm turşusu örneklerinin pH değerlerindeki değişim.

4.1.3.2 Toplam titrasyon asitliği

Üzüm turşusunun 35 günlük olgunlaşma ve 5 aylık depolama süresi boyunca toplam titrasyon asitliği değerleri potansiyometrik yöntem ile belirlenmiştir. Olgunlaştırma süresinin sonunda hirensiz probiyotikli örnek titrasyon asitliği bakımından istatistiksel olarak diğer ürün gruplarından farklı bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.11). Depolama süresi sonunda ise hirensiz ürün ve hirensiz probiyotikli ürün diğer iki ürün grubundan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.12). Toplam asitliğin doğrusal bir değişim göstermediği görülmektedir. Başlangıçta 0,30 olan asitlik değeri, depolama sonunda 0,30 ile 0,45 arasında değişim göstermektedir (Şekil 4.11).

Yabanmersinin iki farklı probiyotik ile fermente edildiği çalışmada, fermentasyon süresi boyunca toplam asitlik değerinin hızlı bir şekilde düştüğü saptanmıştır (Oh vd., 2017).

Tablo 4.11 Olgunlaştırma periyodunda toplam titrasyon asitliğinin tartarik asit cinsinden değişimi.

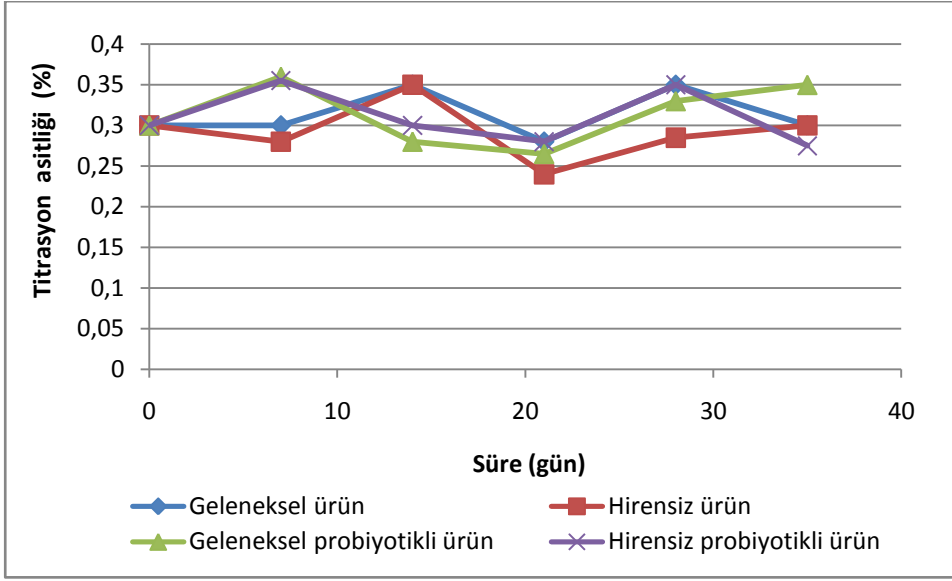
Toplam Titrasyon Asitliği (g/100 ml)				
Süre	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün	Geleneksel probiyotikli ürün	Hirensiz probiyotikli ürün
0.gün	0,30±0,00 ^{a,A}	0,30±0,00 ^{a,A}	0,30± 0,00 ^{s,A}	0,30± 0,00 ^{a,A}
7.gün	0,30±0,00 ^{a,B}	0,28±0,028 ^{a,B}	0,36± 0,014 ^{b,A}	0,35± 0,021 ^{b,A}
14.gün	0,35± 0,07 ^{a,A}	0,35± 0,07 ^{b,A}	0,28± 0,028 ^{a,B}	0,30± 0,07 ^{a,A}
21.gün	0,28± 0,028 ^{b,A}	0,24± 0,00 ^{c,A}	0,26± 0,007 ^{a,A}	0,28± 0,042 ^{b,A}
28.gün	0,35± 0,07 ^{a,A}	0,28± 0,02 ^{a,B}	0,33± 0,042 ^{b,A}	0,35±0,00 ^{a,A}
35.gün	0,30± 0,00 ^{a,A}	0,30± 0,00 ^{a,A}	0,35± 0,07 ^{b,A}	0,27± 0,035 ^{b,B}

Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

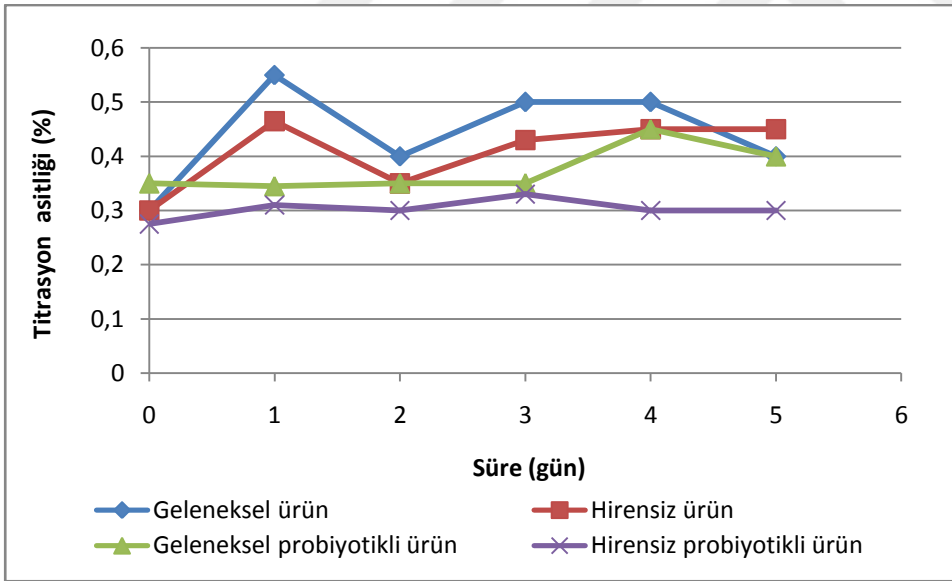
Tablo 4.12 Depolama periyodunda toplam titrasyon asitliğinin tartarik asit cinsinden değişimi (g/100 ml).

Toplam Titrasyon Asitliği (g/100 ml)				
Süre	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün	Geleneksel probiyotikli ürün	Hirensiz probiyotikli ürün
Başlangıç	0,30±0,00 ^{a,A}	0,30±0,00 ^{a,A}	0,35±0,07 ^{a,B}	0,27±0,35 ^{a,A}
1.ay	0,55± 0,07 ^{b,A}	0,46± 0,07 ^{b,B}	0,34± 0,07 ^{a,C}	0,31± 0,084 ^{a,C}
2.ay	0,40± 0,00 ^{c,A}	0,30± 0,00 ^{a,B}	0,35± 0,07 ^{a,C}	0,30± 0,00 ^{a,B}
3.ay	0,50± 0,00 ^{b,A}	0,43± 0,049 ^{b,B}	0,35± 0,028 ^{a,C}	0,33± 0,091 ^{a,C}
4.ay	0,50± 0,00 ^{b,A}	0,45± 0,07 ^{b,A}	0,45± 0,07 ^{b,A}	0,30± 0,00 ^{a,A}
5.ay	0,40± 0,14 ^{c,A}	0,45± 0,07 ^{b,B}	0,40± 0,00 ^{b,A}	0,30± 0,00 ^{a,C}

Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$).



Şekil 4.10 Olgunlaştırma periyodunda örneklerin toplam titrasyon asitliğindeki değişim.



Şekil 4.11 Depolama sürecinde örneklerin toplam titrasyon asitliğindeki değişim.

4.1.3.3 Briks değeri

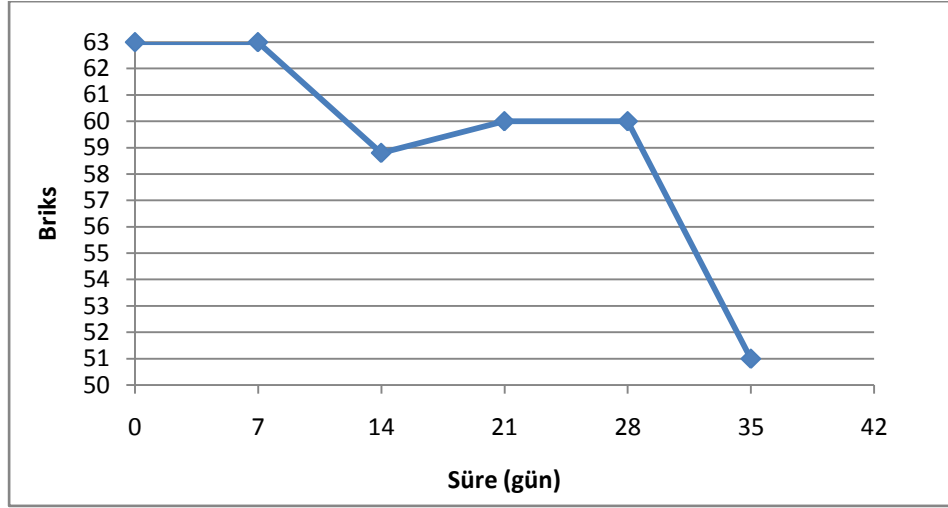
Üzüm turşusunun briks değerlerinin değişimi Tablo 4.13'te verilmiştir. Briks değerlerindeki değişimin doğrusal bir çizgi göstermediği görülmektedir. Başlangıçta 63 olan briks değeri depolama sonunda 52,5 değerine kadar azalma göstermiştir. Gıdanın üretim ve depolama süresi boyunca briks değerinin azaldığı görülmektedir (Şekil 4.13). Briks değerindeki azalmanın, üzümün suyunu salması ve gıdanın su oranının artması nedeniyle olduğu düşünölmektedir.

Porto vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada, portakal ve pancar suyu karışımının mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri 28 gün boyunca izlenmiştir. Karışımın başlangıçta 12 olan brix değeri 28 gün sonunda 8,9-9,2 değerlerine azalmıştır. Antunes vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada mikroenkapsüle probiyotik içeren açerola meyvesi nektarı 35 günlük depolama süresi boyunca başlangıçtaki 11.6 brix değerini korumuştur. Ding ve Shah (2008) tarafından yapılan çalışmada, elma ve portakal sularında serbest halde ve mikroenkapsüle halde probiyotikler inoküle edilmiş, 6 hafta boyunca mikrobiyolojik ve kimyasal özellikler incelenmiştir. Serbest halde probiyotik içeren elma suyunda brix değeri %2,6 azalma gösterirken, enkapsüle probiyotik içeren elma suyunda %1,1 azalma görölmüştür. Aynı şekilde, serbest halde probiyotik içeren portakal suyunda brix değeri başlangıca göre %2,2 azalırken, enkapsüle probiyotik içeren meyve suyunda %0,9 azalmıştır. Serbest halde bulunan probiyotiğin, mikroenkapsüle haldekine göre şekeri daha kolay kullanması sonucu brikste daha fazla düşüş meydana gelmiş olabileceği belirtilmiştir.

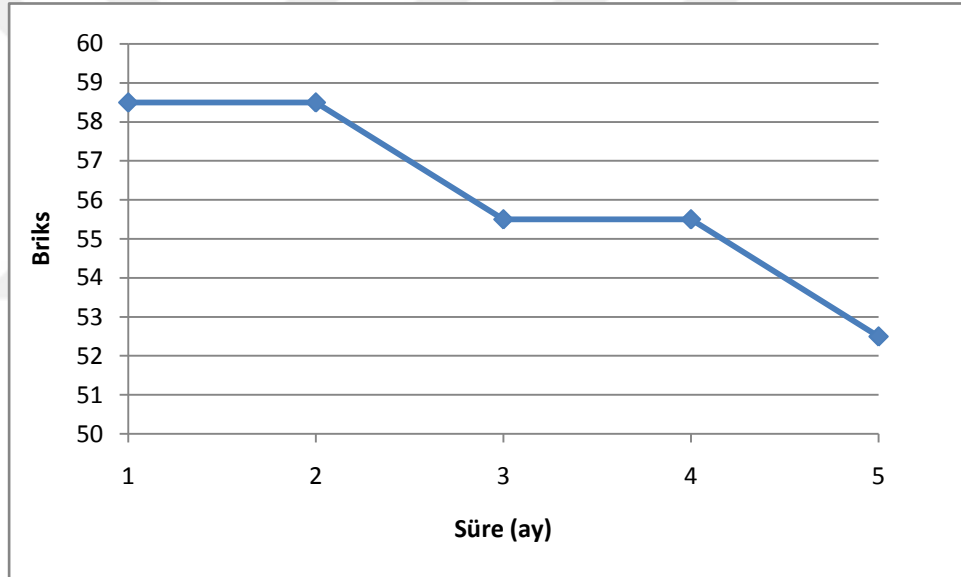
Tablo 4.13 Olgunlaşma ve depolama periyodunda briks değerlerindeki değişim.

Zaman	Briks
0	63±1,41 ^a
1. hafta	63±1,41 ^a
2. hafta	58,8±0,84 ^b
3. hafta	60±0,00 ^b
4. hafta	60±0,00 ^b
5. hafta	51±0,00 ^c
1.ay	58,5±2,12 ^b
2.ay	58,5±0,70 ^b
3.ay	55,5±2,12 ^c
4.ay	55,5±3,53 ^c
5.ay	52,5±0,70 ^c

Aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$).



Şekil 4.12 Olgunlaştırma periyodunda üzüm turşusunun briks değerindeki değişim.



Şekil 4.13 Depolama periyodunda üzüm turşusunun briks değerindeki değişim.

4.1.4 Probiyotik içeren ve içermeyen üzüm turşularının duyuşal özelliklerinin belirlenmesi

Duyusal analiz sonuçlarına göre, bütün parametrelerde hiren içermeyen örnekler en yüksek puanları almıştır. Renk ve koku bakımından 3 numaralı örnek diğerlerine göre anlamlı derecede yüksek puan alsa da, genel beğeni incelendiğinde en kabul edilebilir ürün (4 numaralı) hiren içermeyen probiyotikli ürün olmuştur (Tablo 4.14). Sonuçlar incelendiğinde, probiyotik içeren ürün gruplarının (3 ve 4) diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek sonuçlar aldığı görülmektedir.

L. paracasei ile zenginleştirilmiş elma suyunun duyuşal değerlendirmesinde, bulanıklık hariç diğer duyuşal özellikler tüketiciden kabul edilebilir puan almıştır (Pimentel vd., 2015). Yapılan diğer çalışmalarda da probiyotik suşun meyve sularında bulanıklığa yol açtığı, bunun da kabul edilebilirlik düzeyini azalttığı görülmektedir. *L. acidophilus* içeren farklı soya sütü örneklerinin duyuşal değerlendirme sonuçlarında probiyotik içeren örnek grubu 7/10 puan almıştır. Probiyotiklerin, eklendiği gıdanın tat, aroma, lezzetinde gıdanın yapısına bağılı olarak farklı özellikler kattığı anlaşılmaktadır. *L. acidophilus* ile fermente edilen armut suyunun, ekşi bir aromaya sahip olması olumsuz bir etki doğururken, genel olarak beğenildiği belirlenmiştir (Ankolekar vd., 2012). *L. plantarum*, *L. delbrueckii* ve *L. rhamnosus* içeren üzüm sularının kabul edilebilirliğinin kontrol ile aynı düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.14 Örnek gruplarının duyuşal değerlendirme sonuçları.

Örnek	Renk	Tat	Koku	Genel beğeni
Geleneksel ürün	3,27±0,96 ^a	2,73±0,46 ^a	2,73±1,1 ^a	3,00±0,85 ^a
Hirensiz ürün	3,27±1,22 ^a	2,93±0,88 ^a	2,80±1,15 ^a	3,00±1,00 ^a
Geleneksel probiyotik ürün	4,13±0,83 ^b	3,47±1,01 ^b	4,07±0,88 ^b	3,73±1,00 ^b
Hirensiz probiyotikli ürün	3,93±0,88 ^{a,b}	3,67±0,98 ^b	3,87±0,92 ^b	3,87±0,92 ^b

Aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır (p<0.05).

4.1.5 Üzüm turşusunun olgunlaştırılması ve depolanması sırasında *B.cereus* ve *E.coli*'nin canlı kalma durumunun araştırılması

4.1.5.1 Üzüm turşusunun olgunlaştırılması ve depolanması sırasında *B.cereus*'un canlı kalma durumu

B.cereus'un üzüm turşusunda canlı kalma durumunun araştırılması amacı ile, *B.cereus* kültürü dört grup halinde hazırlanan; geleneksel, hirensiz, geleneksel probiyotikli ve hirensiz probiyotikli üzüm turşularına olgunlaşmanın 0. gününde 10⁶ kob/ml 10³ kob/ml olmak üzere iki farklı dozda inoküle edilmiştir. İnokülasyondan önce, üzüm turşusunda 0. günde *B.cereus* sayısı analiz edilmiş, inokülasyondan önce üzüm turşusunda *B.cereus* kolonisi görülmemiştir. 0. günden 35. olgunlaşma süresinin sonuna kadar 7 günlük aralıklarla *B.cereus* sayısı analiz edilmiştir (Tablo 4.15). Düşük doz (10³ kob/ml) *B.cereus* içeren örneklerde 0. günden itibaren koloni gözlenmemiştir. Sadece üretimin 7. gününde 3 numaralı örnekte 1 adet tipik koloni saptanmıştır. Düşük doz *B.cereus*'un üzüm turşusundaki asidik ortamdan etkilenecek canlılığını kaybettiği öngörülmektedir.

Yüksek doz (10^6 kob/ml) *B.cereus* inoküle edilen örneklerdeki *B. cereus* sayısındaki değişim sonuçları incelendiğinde 0. günden itibaren azalma olduğu görülmektedir. Başlangıçta 5,53 log birim olan *B. cereus* sayısı, 35 günlük üretim periyodunda 1,15-1,69 log arasında bulunmuştur (Şekil 4.14). *B. cereus* sayısında olgunlaştırma aşamasında belirgin bir azalma meydana gelmiştir. 5 aylık depolama süresi sonunda ise koloni sayısı 1,56-1,60 log aralığında kalmıştır (Şekil 4.15). Depolama süresi boyunca belirgin bir azalma olmamış, koloni sayılarında bir artış da gözlenmemiştir (Tablo 4.16). 4°C depolama sıcaklığının, üzüm turşusu muhafazası için mikrobiyal açıdan uygun olduğu görülmektedir. 35 günlük olgunlaştırma süresi sonunda tüm örneklerdeki *B.cereus* sayısının istatistiksel olarak farklı olduğu görülmektedir ($p<0,05$) (Tablo 4.15). 5 aylık depolama süresi sonunda ise geleneksel probiyotikli ürün, *B.cereus* sayısı bakımından diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.16).

Chen vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada, farklı asit ortamlarında (sitrik, tartarik, propiyonik, laktik ve asetik asit) *B.cereus*'un asit adaptasyonunun popülasyondaki değişime etkisi araştırılmıştır. Asit adaptasyonunun, *B.cereus* canlılığını 10 kat arttırdığı tespit edilmiştir. Laktik, asetik ve propiyonik asitin inhibisyon etkisinin daha yüksek olduğu, sitrik asitin ise en az inhibitif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Öncül ve Karabıyıklı (2016), tarafından yapılan çalışmada, koruk suyunda farklı patojenlerin canlılığı incelenmiş, 15 dakikalık uygulama sonucu yüksek doz inokulum içeren örneklerdeki tüm patojenler inhibe edilmiştir. Düşük doz içeren örneklerde ise 5 dakikalık uygulama inhibisyon için yeterli olmuştur. Üzüm çekirdeği ekstraktının etlerde *Clostridium perfringens* gelişimine etkisi incelenmiş, üzüm çekirdeği ekstraktının raf ömrünü artırmak ve mikrobiyolojik kalite sağlamak açısından kullanım potansiyeli olduğu belirlenmiştir (Coşansu ve Juneja, 2018). Güven ve Benlikaya (2005) tarafından yapılan çalışmada, bozaya 10^3 kob/ml düzeyinde *B.cereus* inoküle edilmiş, 72 saatlik fermentasyon süresi boyunca *B.cereus*'un canlı kalma durumu incelenmiştir. Bozada laktik asit bakterisi ve maya sayısı artarken, *B.cereus* sayısının hızlı bir şekilde düştüğü saptanmıştır.

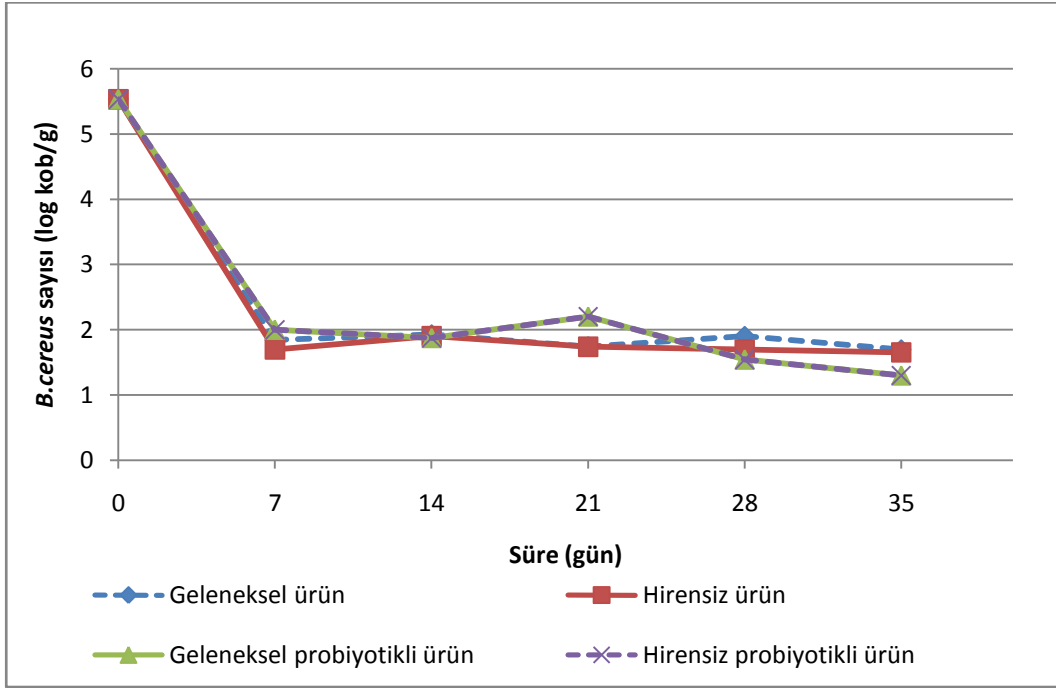
Tablo 4.15 Yüksek doz *B.cereus* içeren örneklerde olgunlaştırma süresince *B. cereus* sayısındaki değişim.

Süre	<i>B.cereus</i> sayısı (log kob/g)			
	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün	Geleneksel probiyotikli ürün	Hirensiz probiyotikli ürün
0.gün	5.53±0.0 ^{a,A}	5.53±0.0 ^{a,A}	5.53±0.0 ^{a,A}	5.53±0.0 ^{a,A}
7.gün	1.84±0.08 ^{b,A}	1.60±0.42 ^{b,B}	2.0±0.0 ^{b,C}	2.0±0.0 ^{b,C}
14.gün	1.89±0.26 ^{c,A}	1.90±0.07 ^{c,A}	1.84±0.08 ^{c,A}	1.87±0.03 ^{c,A}
21.gün	1.69±0.29 ^{d,A}	1.72±0.17 ^{d,B}	1.30±0.0 ^{d,C}	1.89±0.83 ^{c,D}
28.gün	1.90±0.0 ^{c,A}	1.69±0.29 ^{e,B}	1.99±0.12 ^{e,C}	1.50±0.28 ^{d,D}
35.gün	1.69±0.12 ^{d,A}	1.57±0.38 ^{f,B}	1.59±0.15 ^{f,C}	<1,3±0.21 ^{e,D}

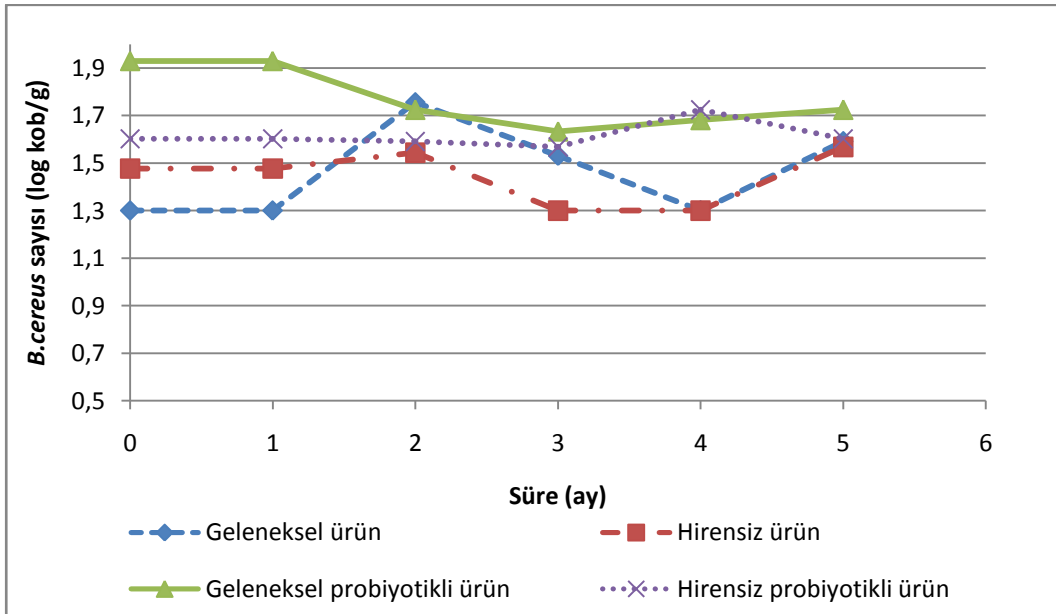
Tablo 4.16 Yüksek doz *B.cereus* içeren örneklerde depolama süresince *B. cereus* sayısındaki değişim (log kob/ml).

Süre	<i>B.cereus</i> sayısı (log kob/g)			
	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün	Geleneksel probiyotikli ürün	Hirensiz probiyotikli ürün
1. ay	1.30±0.0 ^{a,A}	1.45±0.21 ^{a,A}	1.92±0.03 ^{a,A}	1.54±0.33 ^{a,A}
2. ay	1.75±0.00 ^{b,A}	1.54±0.021 ^{b,B}	1.72±0.05 ^{b,A}	1.59±0.01 ^{b,B}
3. ay	1.52±0.10 ^{c,A}	<1,3±0.28 ^{c,B}	1.63±0.04 ^{c,A}	1.57±0.01 ^{b,A}
4. ay	<1,3±0.28 ^{a,A}	1.30±0.00 ^{d,A}	1.68±0.00 ^{d,B}	1.72±0.00 ^{c,D}
5. ay	1.59±0.04 ^{e,A}	1.57±0.01 ^{b,A}	1.71±0.09 ^{b,B}	1.59±0.15 ^{b,A}

Aynı satırda farklı büyük harf veya aynı sütunda farklı küçük harf içeren örnekler arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p < 0.05$).



Şekil 4.14 Olgunlaştırma periyodunda yüksek doz *B.cereus* içeren üzüm turşusu örneklerindeki *B.cereus* sayısındaki değişim.



Şekil 4.15 Depolama periyodunda yüksek doz *B.cereus* içeren üzüm turşusu örneklerindeki *B.cereus* sayısındaki değişim.

4.1.5.2 Üzüm turşusunun olgunlaştırma ve depolama süresince *E.coli*'nin canlı kalma durumu

E.coli kültür süspansiyonu üzüm turşularına 10^6 kob/ml ve 10^3 kob/ml olacak şekilde iki farklı dozda inoküle edilmiştir. İnokülasyondan önce, üzüm turşusunda 0. günde *E.coli* sayısı analiz edilmiştir. *E.coli* kolonisi görülmemiştir. Zamana bağlı *E.coli* sayısındaki değişim incelendiğinde, sayıların yüksek ve düşük doz inoküle edilen örneklerde 7. günden itibaren belirleme düzeyinin ($<1,3$ log kob/g) altında olduğu görülmüştür (Tablo 4.17). Üzüm turşusunun yapısının *E.coli*'nin gelişmesi için uygun olmadığı anlaşılmaktadır. Üzüm turşularına inoküle edilen *E.coli*'nin 7 gün içerisinde inaktif hale gelmesi nedeniyle, inhibitif etkinin yüksek şeker konsantrasyonundan kaynaklanıp kaynaklanmadığını araştırmak amacıyla, 1,2,3 ve 4 numaralı örneklerden 20'şer ml alınıp 20 ml steril saf su ile karıştırılmıştır. *E.coli* kültürü yarı yarıya seyretilmiş bu örneklerle 10^6 kob/ml ve 10^3 kob/ml düzeylerinde ayrı ayrı tekrar inoküle edilmiş ve örneklerdeki *E.coli* sayılarının zamana bağlı değişimi incelenmiştir (Şekil 4.16, Şekil 4.17). Yüksek doz inoküle edilen örneklerdeki *E.coli*'nin 40 güne kadar canlılığını koruduğu (Tablo 4.18), düşük doz inoküle edilen örnekte ise 20. günde inaktif hale geldiği tespit edilmiştir (Tablo 4.19).

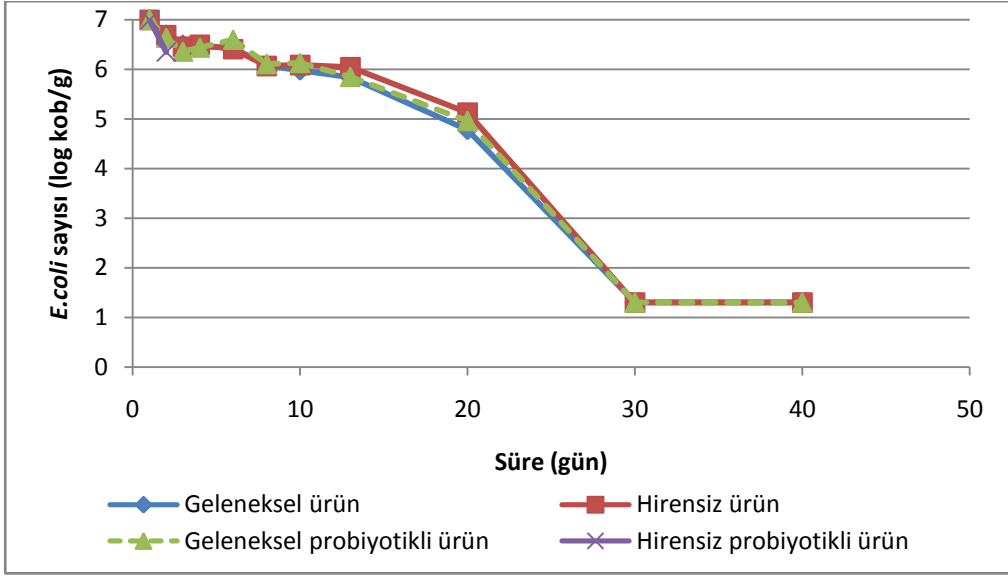
Sheng vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, üzüm çekirdeği ekstraktlarının altı farklı toksijenik *E.coli* suşuna karşı inhibisyon etkisi gösterdiği saptanmıştır. Gullian-Klanian ve Sanchez-Solis (2018), tarafından yapılan çalışmada, farklı gıda örneklerinde *E.coli*'nin gelişme özellikleri araştırılmıştır. Lag fazı, jenerasyon süresi, üreme eğrisi bakımından gıda matrisleri arasında belirgin bir fark olmadığı belirlenmiştir. İki farklı *E.coli* O157:H7 suşu, pH 5 olan ortama adapte edilmiş, iki meyve suyu ve iki süt ürünü ortamında canlılığı izlenmiştir. Asit adaptasyonu ve düşük sıcaklığın *E.coli*'nin canlılığını artırdığı belirlenmiştir (Hsin-Yi ve Chou, 2001). Meyve sularının *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* ve *Staphylococcus aureus* üzerine antagonistik etkisi de incelenmiş, *E.coli* üzerinde en etkili olanın üzüm suyu olduğu belirlenmiştir

Tablo 4.17 Yüksek ve düşük doz *E.coli* içeren örneklerde *E.coli* sayısındaki değişim.

<i>E.coli</i> sayısı (log kob/g)		
Süre	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün
0. gün	5,94	5,96
7. gün	<1,3	<1,3
14.gün	<1,3	<1,3
<i>E.coli</i> sayısı (log kob/g)		
Süre	Geleneksel ürün	Hirensiz ürün
0. gün	3,96	3,96
7. gün	<1,3	<1,3
14.gün	<1,3	<1,3

Tablo 4.18 Yüksek doz *E.coli* içeren seyreltilmiş örneklerdeki *E.coli* sayısının değişimi.

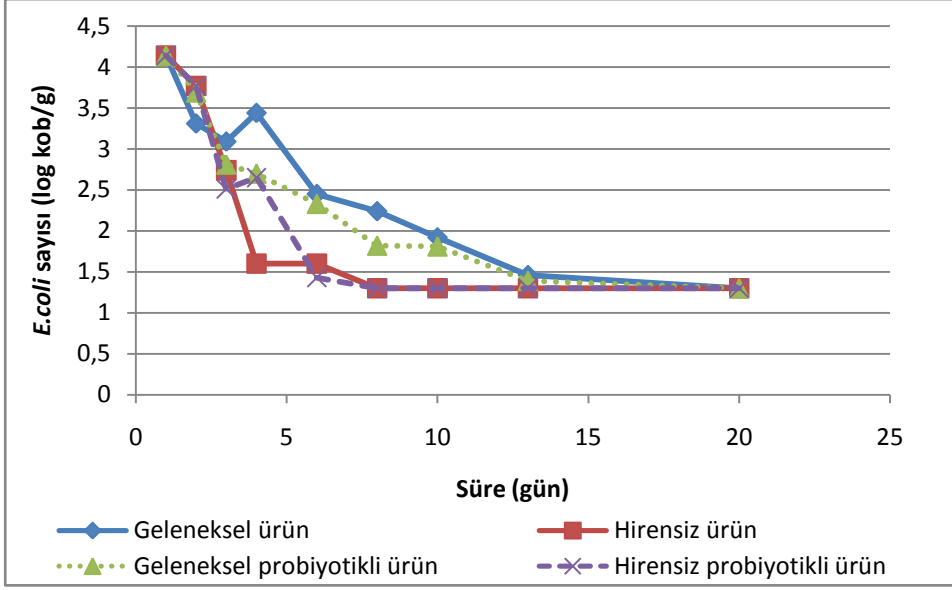
Süre (gün)	<i>E.coli</i> sayısı (log kob/g)			
	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün	Geleneksel probiyotikli ürün	Hirensiz probiyotikli ürün
1	7,00	7,00	7,00	7,00
2	6,70	6,69	6,64	6,35
3	6,50	6,46	6,36	6,33
4	6,46	6,50	6,44	6,19
6	6,44	6,41	6,60	6,17
8	6,07	6,07	6,11	5,91
10	5,98	6,09	6,13	5,82
13	5,84	6,05	5,85	5,59
20	4,78	5,13	4,96	4,34
30	1,3	1,3	1,3	1,3
40	<1,3	<1,3	<1,3	<1,3



Şekil 4.16 Yüksek doz *E. coli* içeren seyreltilmiş üzüm turşusu örneklerindeki *E. coli* sayısının değişimi.

Tablo 4.19 Düşük doz *E.coli* içeren seyreltilmiş örneklerdeki *E.coli* sayısının değişimi.

Süre (gün)	<i>E.coli</i> sayısı (log kob/g)			
	Geleneksel ürün	Hiren içermeyen ürün	Geleneksel probiyotikli ürün	Hirensiz probiyotikli ürün
1	4,14	4,14	4,14	4,14
2	3,31	3,77	3,69	3,77
3	3,09	2,74	2,81	2,51
4	3,44	1,60	2,70	2,65
6	2,45	1,60	2,33	1,43
8	2,24	<1,3	1,82	1,30
10	1,92	<1,3	1,81	<1,3
13	1,46	<1,3	1,39	<1,3
20	<1,3	<1,3	<1,3	<1,3



Şekil 4.17 Düşük doz *E.coli* içeren seyreltilmiş örneklerdeki *E.coli* sayısının değişimi.

4.1.6 Hirenin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi

4.1.6.1 Mikrodilüsyon yöntemi ile minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi

Hiren metanol ekstraktının *B.cereus*, *E.coli* ve *L. acidophilus* La-5 üzerine inhibisyon etkisi için MİK değerleri sırası ile %6,25, %12,5 ve %25; hiren su ekstraktının ise MİK değeri *B.cereus* ve *E.coli* için %25, La-5 için %50 olarak saptanmıştır (Tablo 4.20). Bütün türler üzerinde, hiren metanol ekstraktının hiren su ekstraktına göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. *B.cereus*'un iki ekstrakta karşı da diğer türlerden daha duyarlı olduğu görülmektedir.

4.1.6.2 Minimum bakterisidal konsantrasyonun (MBK) belirlenmesi

Hiren metanol ekstraktının *B. cereus* ve *E.coli* üzerinde MBK değeri %12,5, La-5 üzerinde %25 olarak saptanmış, hiren su ekstraktının ise inhibisyon etkisi saptanmamıştır (Tablo 4.20). MBK sonuçları da MİK sonuçlarını destekler niteliktedir. *B.cereus*'un ve *E.coli*'nin, *L.acidophilus* La-5'e göre daha duyarlı olduğu saptanmıştır.

4.1.6.3 Disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Disk difüzyon yöntemi ile inhibisyon etkisi belirlenmiştir. Hiren metanol ekstraktının *B.cereus*, *E.coli* ve *L.acidophilus* La-5 üzerinde zon çapları 11 mm, 10 mm ve 8 mm olarak belirlenmiştir (Tablo 4.20). Hiren su ekstraktında *L.acidophilus* La-5 için 7 mm inhibisyon çapı gözlenmiş, *B.cereus* ve *E.coli* için inhibisyon gözlenmemiştir.

Yapılan çalışma sonucunda, hiren alkol ekstraktının, hiren su ekstraktına kıyasla daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiği anlaşılmaktadır.

Tablo 4.20 Hiren metanol ve hiren su ekstraktlarının farklı mikroorganizmalar üzerindeki MİK, MBK ve disk difüzyon analizi sonuçları.

Ölçüm	Ekstrakt	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
MİK değeri (%)	Metanol ekstraktı	6,25	12,5	25
	Su ekstraktı	25	25	50
MBK değeri (%)	Metanol ekstraktı	12,5	12,5	25
	Su ekstraktı	Bakterisidal etki gözlenmedi	Bakterisidal etki gözlenmedi	Bakterisidal etki gözlenmedi
Zon çapları (cm)	Metanol ekstraktı	11	10	8
	Su ekstraktı	inhibisyon gözlenmedi	inhibisyon gözlenmedi	7

Petrovic vd., (2017) tarafından yapılan çalışmada, hiren kökü hidrodistilasyon ile distile edilmiş, uçucu bileşenler susuz sodyum sülfat ile kurutulmuş ve analizlerde kullanılmıştır. 8 bakteri suşuna karşı antibakteriyel etkisi incelenmiştir; *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *S. epidermidis* (ATCC 12228), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), Gram negatif *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) ve *Salmonella abony* (NCTC6017). Hiren uçucu bileşenleri tüm suşlara karşı antibakteriyel etki göstermiş, 265-795 µg/ml arasında MİK değerleri elde edilmiştir. Bu geniş antibakteriyel spektrumun hirenin içerdiği temel uçucu bileşenler; allil izotiyosiyanat, 2 feniletıl izotiyosiyanat ve bazı minör glukozinolat hidrolizi ürünlerinden meydana geldiği belirlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, 5 baskın bakteri türüne karşı (2 *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. ve *Enterobacter* spp.) hiren su ekstraktlarının antibakteriyel etkisi incelenmiştir. MİK ve disk volatilizasyon analizleri uygulanmıştır. Broth dilüsyonunda MİK değerleri 0,156- 1,667 µg/ml, MBK değerleri 0,208-2,083 µg/ml, disk volatilizasyonda MİK değerleri 0,039-1,563 µg/ml, MBK değerleri 0,078-1,875 µg/ml olarak saptanmıştır. En yüksek antibakteriyel etki *Bacillus* sp. suşlarında görülmüştür. Aynı çalışmada suşlara disk difüzyon testi de uygulanmış, inhibisyon zonu *Bacillus* spp. suşlarında 10,93-14,50 mm arasında saptanırken, diğer suşlarda 1,21 ile 5,32 mm arasında saptanmıştır (Kim vd., 2015). Bir başka çalışmada ise tarçın, zencefil, muskat ve hirenin sulu ekstraktlarının *Aspergillus niger* (Ascomycota), *Fusarium sambucinum* (Ascomycota), *Pythium sulcatum* (Oomycota) ve *Rhizopus stolonifer* (Zygomycota)'e karşı antimikrobiyal etkisi incelenmiş, hiren hariç diğer tüm ekstraktların misel oluşumunu engellediği görülmüştür (Mvuemba vd., 2009). Hirenin sulu ekstraktının antimikrobiyal etkisinin düşük seviyede olduğu bu çalışma ile de desteklenmektedir. Hirenin içerdiği ITC'ların antimikrobiyal etkisi oral patojen türlerde test edilmiştir. 6 fakültatif anaerobik bakteri suşu, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; bir maya suşu, *Candida albicans*, ve 3 anaerobik bakteri suşuna *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella nigrescens* ve *Clostridium perfringens* karşı incelenmiştir. Disk difüzyon yöntemi uygulanmış, bütün mikroorganizmalarda inhibisyon etkisi görülmüştür. MBK değerleri 6

fakültatif anaerobik bakteri ve *Candida albicans* için 1,25-5,00 mg/ml arasında, 3 anaerobik bakteri suşu için ise 4,17-16,67 mg/ml aralığında bulunmuştur. Fakültatif mikroorganizmalar arasında en yüksek inhibisyon değeri 1,25 mg/ml MBK değeri ile *Candida albicans* için görülmüş, anaerobik mikroorganizmalar arasında ise 4,17 mg/ml MBK değeri ile *F. nucleatum* için görülmüştür. Bu çalışmada hiren ekstraktlarının doğal dezenfektan olarak kullanım potansiyeli vurgulanmıştır (Park vd., 2013). Dekic vd., (2017) tarafından yapılan bir çalışmada dimetilsülfoksit içerisinde çözdürülerek hazırlanan hiren dietileter ekstraktı, antimikrobiyal etkisi *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus cereus* (ATCC 9139), *Salmonella Enteritidis* (ATCC 13076), *Proteus vulgaris* (ATCC 8427), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Candida albicans* (ATCC 10231) ve *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404)'e karşı test edilmiş, bu amaçla broth dilüsyon yöntemi uygulanmıştır. Bütün mikroorganizmalar için 0,03-2,50 mg/ml arasında MİK değerleri elde edilmiştir. *B. cereus* ve *P. vulgaris* en duyarlı suşlar olarak saptanırken, *C. albicans* ve *B. subtilis* ise en dirençli suşlar olarak saptanmıştır. Hirendeki izotiyosiyanatların; *B.cereus* ve *E.coli*'ye karşı bakterisidal etkisi olduğu belirlenmiştir. Fenil izotiyosiyanatların allil izotiyosiyanatlara göre 7,8-20,5 kat daha fazla bakterisidal etkisi olduğu tespit edilmiştir. İzosiyanatların (ITC) *Helicobacter pylori* gibi kanser yapıcı bakterilere karşı antikarsinojenik etkisi de bulunmaktadır. ITC, enzimlerin S-S bağıını kırarak birçok patojen enzimini inaktive etmektedir. ITC'nin bir diğer antibakteriyel mekanizması bakteri hücresinde ATP sentezini engellemesidir. ITC'nin ayrıca, oksidatif strese yol açma, DNA hasarı ve hücre gelişimini engelleme gibi antibakteriyel mekanizmalarının da olduğu çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (Nguyen vd., 2013). Mucete vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada, hiren ITC'lerinin farklı bakteri, küf ve maya türlerine karşı antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla farklı konsantrasyonlardaki ITC'lara farklı sürelerde maruz bırakılan türlerin inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. *E.coli*'de 2 ile 8 mm'ye kadar, *Bacillus subtilis*'te ise 2 ile 10 mm'ye kadar inhibisyon zonu saptanmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez konusu, geleneksel üzüm turşusu ile ilgili laboratuvar ortamında yapılan ilk çalışma özelliği taşımaktadır. Çalışmada, üzüm turşusu probiyotik ve probiyotiksiz, hirenli ve hirensiz olarak dört grup olarak hazırlanmış, her bir grubun mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşsal özellikleri 35 günlük olgunlaştırma ve 5 aylık depolama periyodu boyunca incelenmiştir. Üzüm turşusunda küf sayısı olgunlaştırma periyodunun sonunda belirleme limitinin altında kalmış, 5 aylık depolama süresinde de küf gelişimi gözlenmemiştir. Maya sayısı ise hiren içeren üzüm turşusunda olgunlaştırma süresi sonunda belirleme limiti altında kalırken, hiren içermeyen gruplarda 3,5-4 log değerlerinde bulunmuştur. Bu sonuç, hirenin gıda koruyucu özellikte olduğu tezini desteklemektedir. Olgunlaştırma ve depolama süresi boyunca toplam laktik asit bakteri sayısı beklenen değerlerden düşük çıkmış, LAB üzüm turşusunda gelişme gösterememiştir. Probiyotik *L.acidophilus* La-5 suşu olgunlaştırma süresinin 28. gününde 4 log değerlerinde ve depolama süresi sonunda 2 log değerlerinde canlılığını korumuştur. Üzüm turşusunun kimyasal özellikleri; pH, titrasyon asitliği ve briks değerleri olgunlaşma ve depolama süresinde incelenmiştir. pH değerleri, olgunlaşma süresinde 5,10-5,26 düzeylerinde kalmış, depolama süresinde ise azalan bir grafik çizmiş olup, depolama süresi sonunda bütün örneklerde 4,80 değerlerinde kalmıştır. Toplam titrasyon asitliği başlangıç anında 0,3 olarak belirlenmiş, depolama süresi sonunda bütün örneklerde 0,33 ile 0,50 aralığında ölçülmüştür. Başlangıçta 20 olan briks değeri, üzüm turşusunun olgunlaşma ve depolama süresinde 17,5 değerine kadar azalma göstermiştir. Duyusal analiz testi, tat, koku, renk ve genel beğeni kriterleri ile değerlendirilmiş, genel beğenide en yüksek puanı hiren içermeyen probiyotikli örnek almıştır. Hirenin kendine has keskin aroması genel beğeni puanını etkilemiştir. Probiyotik ilavesinin duyuşsal değerlendirmeyi olumlu etkilediği görülmektedir. Üzüm turşusunda *E.coli* ve *B. cereus* türlerinin canlı kalma durumu araştırılmıştır. *E.coli*'nin 7. gün sonunda üzüm turşusunda canlılığını yitirdiği belirlenmiş, *B. cereus* ise depolama süresi sonunda 1,59 log ile 1,71 log değerleri arasında kalmıştır. *E.coli* için daha detaylı bir analiz yapabilmek amacı ile üzüm turşusu steril saf su ile 1-1 oranında seyreltilmiş, *E.coli* kültürü seyreltilmiş ürüne 10^6 kob/ml ve 10^3 kob/ml sayısında tekrar inoküle edilmiştir. Yüksek doz içeren örnekte *E.coli* 40. gün sonunda,

düşük doz içeren de ise 20. gün sonunda sayılar belirme limitinin altına düşmüştür. Çalışmada ayrıca hirenin antimikrobiyal özellikleri incelenmiş, MİK analizi sonuçlarına göre incelenen türlere karşı hiren alkol ekstraktının MİK değeri %6,25 ile %12 arasında, hiren su ekstraktının MİK değeri ise %25 ile %50 arasında saptanmıştır. Hiren alkol ekstraktının antimikrobiyal etkisinin hiren su ekstraktına göre daha güçlü olduğu görülmektedir. İncelenen türler kıyaslandığında, *B.cereus*'un *E.coli* ve *L.acidophilus* La-5'e göre daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Hiren metanol ekstraktının inhibisyon zonları karşılaştırıldığında *B.cereus* için 11 mm, *E.coli* için 10 mm ve *L.acidophilus* La-5 için 8 mm inhibisyon zonu çapı gözlenmiştir. Burada da en duyarlı türün *B.cereus* olduğu görülmektedir. Hiren su ekstraktı için ise *B.cereus* ve *E.coli* için inhibisyon zonu gözlenmezken, La-5 için 7 mm inhibisyon zon çapı gözlenmiştir.

Sonuç olarak, üzüm turşusunun *L.acidophilus* La-5'in gelişimi için uygun olmadığı görülmüş, bu suş gıdada canlılığını uzun süre koruyamamıştır. Üzüm turşusunun düşük olmayan pH değerleri probiyotik gelişimi için uygun olsa da, yüksek şeker konsantrasyonlarından dolayı probiyotik gelişimi ilk haftalardan itibaren azalma göstermiştir. Probiyotiklerin bu gıdada gelişiminin hangi koşullardan etkilendiği ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Hirenin antimikrobiyal etkisi, önceki çalışmaların sonuçlarını destekler nitelikte bulunmuştur. Bu bitkinin farklı tür gıdalarda gıda koruyucusu olarak kullanım potansiyeli araştırılmalıdır.

Meyve sebze kaynaklı probiyotik gıdaların geliştirilmesi günümüzde önemli bir konudur. Süt ürünleri tüketmeyen ve bitkisel gıda ağırlıklı beslenme tarzını benimsemiş tüketici kesimi için probiyotik meyve ve sebze suları ile ilgili araştırmalar devam etmelidir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdollahzadeh, S.M., Zahedani, M.R., Rahmdel, S., Hemmati, F., Mazloomi, S.M.**, 2018, Development of *Lactobacillus acidophilus*-fermented milk fortified with date extract, *LWT - Food Science and Technology*, 98, 577-582p.
- Aissani, N., Tedeschi, P., Maietti, A., Brandolini, V., Garau, V.L., Caboni, P.**, 2013, Nematicidal activity of allylisothiocyanate from horseradish (*A Armoracia rusticana*) roots against *Meloidogyne incognita*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 4723-4727p.
- Alves, N.N., Messaoud, G.B., Desobry, S., Costa, J.M.C., Rodrigues, S.**, 2016, Effect of drying technique and feedflow rate on bacterial survival and physicochemical properties of a non-dairy fermented probiotic juice powder, *Journal of Food Engineering*, 189, 45-54p.
- Alves, N.N., Sancho, S.O., Silva, A.R.A., Desobry, S., Costa, J.M.C., Rodrigues, S.**, 2017, Spouted bed as an efficient processing for probiotic orange juice drying, *Food Research International*, 101, 54-60p.
- Anal, A.K. and Singh, H.**, 2007, Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery, *Trends in Food Science and Technology*, 18, 240-251p.
- Ankolekar, C., Pinto, M., Green, D., Shetty, K.**, 2012, In vitro bioassay based screening of antihyperglycemia and antihypertensive activities of *Lactobacillus acidophilus* fermented pear juice, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13, 221-230p.
- Antunes, A.E.C., Liserre, A.M., Coelho, A.L.A., Menezes, C.R., Moreno, I., Yotsuyanagi, K., Azambuja, N.C.**, 2013, Acerola nectar with added microencapsulated probiotic, *LWT - Food Science and Technology*, 54, 125-131p.
- Arıcı, M. and Coşkun, F.**, 2001, Hardaliye: fermented grape juice as a traditional Turkish beverage, *Food Microbiology*, 81, 417-421p.
- Beuchat L. R.**, 2002, Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables, *Microbes and Infection*, 4, 413-423p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Braïek, O.B., Morandi, S., Cremonesi, P., Smaoui, S., Hani, K., Ghrairi, T.,** 2018, Biotechnological potential, probiotic and safety properties of newly isolated enterocin-producing *Enterococcus lactis* strains, *LWT - Food Science and Technology*, 92, 361-370p.
- Betoret, N., Puente, L., Diaz, M.J., Pagan, M.J., Garcia, M.J., Gras, M.L., Martinez-Monzo J., Fito P.,** 2003, Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation, *Journal of Food Engineering*, 56, 273-277p.
- Betoret, E., Calabuig-Jimenez, L., Patrignani, F., Lanciotti, R., Dalla Rosa, M.,** 2017, Effect of high pressure processing and trehalose addition on functional properties of mandarin juice enriched with probiotic microorganisms, *LWT - Food Science and Technology*, 85, 418-422p.
- Buriti, F.C.A., Komatsu, T.R. and Saad, S.M.I.,** 2007, Activity of passion fruit (*passiflora edulis*) and guava (*psidium guajava*) pulps on *Lactobacillus acidophilus* in refrigerated mousses, *Brazilian Journal of Food Microbiology*, 38, 315-317p.
- Burke, M.L., Moore, S.A.,** 2017, *Bacillus subtilis* strain PB6 demonstrates growth inhibition toward equine-specific bacterial pathogens, *Journal of Equine Veterinary Science*, 58, 84-88p.
- Calabrone, L., Larocca, M., Martelli, G., Marzocco, S.,** 2015, Total phenols and flavonoids content, antioxidant capacity and lipase inhibition of root and leaf horseradish (*Armoracia rusticana*) extracts, *Food and Nutrition Sciences*, 6, 64-74p.
- Chaikham, P.,** 2015, Stability of probiotics encapsulated with Thai herbal extracts in fruit juices and yoghurt during refrigerated storage, *Food Bioscience*, 12,61-66p.
- Champagne, C.P. and Gardner, N.J.,** 2008, Effect of storage in a fruit drink on subsequent survival of probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses, *Food Research International*, 41,539-543p.
- Chapman, C.M.C., Gibson, G.R. and Rowland, I.,** 2014, Effects of single- and multi-strain probiotics on biofilm formation and in vitro adhesion to bladder cells by urinary tract pathogens, *Anaerobe*, 27, 71-76p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Charalampopoulos, D., Pandiella, S.S. and Webb, C.**, 2003, Evaluation of the effect of malt, wheat and barley extractson the viability of potentially probiotic lactic acid bacteria under acidic conditions, *International Journal of Food Microbiology*, 82, 133-141p.
- Chavez, B.E. and Ledebor, A.M.**, 2007, Drying of Probiotics: Optimization of formulation and process to enhance storage survival, *Drying Technology: An International Journal*, 25, 1193-1201p.
- Chen, J., Chiang, M. and Chou, C.**, 2009, Survival of the acid-adapted *Bacillus cereus* in acidic environments, *International Journal of Food Microbiology*, 128, 424-428p.
- Choi, J., Gornsawun, G. and Shin, I.**, 2015, Effect of a polypropylene (PP) patch containing isothiocyanates (ITCs) extracted from horseradish (*Armoracia rusticana*) root on the shelf-life of low-salt myeong-ran jeotgal, *Food Science and Biotechnology*, 24, 2065-2076p.
- Choi, K., Kim, H., Shin, I.**, 2017, Antifungal activity of isothiocyanates extracted from horseradish (*Armoracia rusticana*) root against pathogenic dermal fungi, *Food Science and Biotechnology*, 26 (3), 847-852p.
- Collado, M.C., Meriluoto, J. and Salminen, S.**, 2007, In vitro analysis of probiotic strain combinations to inhibit pathogen adhesion to human intestinal mucus, *Food Research International*, 40, 629-636p.
- Corredor, Z., Rodríguez-Ribera, L., Coll, E., Montanes, R., Diaz, J.M., Ballarin, J., Marcos, R., Pastor, S.**, 2016, Unfermented grape juice reduce genomic damage on patients undergoing hemodialysis, *Food and Chemical Toxicology*, 92, 1-7p.
- Costa, C.M., Silva, J.V.C., Mingotti, J.D., Barao, C.E., Klososki, S.J., Pimentel, T.C.**, 2017, Effect of ascorbic acid or oligofructose supplementation on *L. paracasei* viability, physicochemical characteristics and acceptance of probiotic orange juice, *LWT - Food Science and Technology*, 75, 195-201p.
- Coşansu, S. and Juneja, V.K.**, 2018, Growth of *Clostridium perfringens* in sous vide cooked ground beef with added grape seed extract, *Meat Science*, 143, 252-256p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Darjani, P., Nezhad, M.H., Kadkhodae, R., Milani, E.,** 2016, Influence of prebiotic and coating materials on morphology and survival of a probiotic strain of *Lactobacillus casei* exposed to simulated gastrointestinal conditions, *LWT - Food Science and Technology*, 73,162-167p.
- De Bellis, P., Valerio, F., Sisto, A., Lonigro, S.L., Lavermicocca, P.,** 2010, Probiotic table olives: Microbial populations adhering on olive surface in fermentation sets inoculated with the probiotic strain *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 in an industrial plant, *International Journal of Food Microbiology*, 140, 6-13p.
- Dekic, M.S., Radulovic, N.S., Stojanovic, N.M., Randjelovic, P.J., Stojanovic-Radic, Z.Z., Najman, S., Stojanovic, S.,** 2017, Spasmolytic, antimicrobial and cytotoxic activities of 5-phenylpentyl isothiocyanate, a new glucosinolate autolysis product from horseradish (*Armoracia rusticana* P. Gaertn., B. Mey. & Scherb., Brassicaceae), *Food Chemistry*, 232, 329-339p.
- Devi, S.M., Kurrey, N.K. and Halami, P.M.,** 2018, *In vitro* anti-inflammatory activity among probiotic *Lactobacillus species* isolated from fermented foods, *Journal of Functional Foods*, 47,19-27p.
- Dias, C.O., Almeida, J.S.O., Pinto, S.S., Santana, F.C.O., Verruck, S., Müller, C.M.O., Prudencio, E.S., Amboni, R.D.M.C.,** 2018, Development and physico-chemical characterization of microencapsulated bifidobacteria in passion fruit juice: A functional non-dairy product for probiotic delivery, *Food Bioscience*, 24, 26-36p.
- Ding, W.K. and Shah, N.P.,** 2008, Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices, *International Food Research Journal*, 15 (2), 219-232p.
- Dorey, E., Fournier, P., Lechaudel, M., Tixier, P.,** 2016, A statistical model to predict titratable acidity of pineapple during fruit developing period responding to climatic variables, *Scientia Horticulturae*, 210, 19-24p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Espirito-Santo, A.P., Carlin, F. and Renard, C.M.G.C.**, 2015, Apple, grape or orange juice: Which one offers the best substrate for lactobacilli growth?—A screening study on bacteria viability, superoxide dismutase activity, folates production and hedonic characteristics, *Food Research International*, 78, 352-360p.
- Farias, N., Soares, M. and Gouveia, E.**, 2016, Enhancement of the viability of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 in passion fruit juice: Application of a central composite rotatable design, *LWT - Food Science and Technology*, 71, 149-154p.
- FAO/WHO**, 2002, Working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf (Erişim tarihi: 13 Temmuz 2019).
- Filho, E.G.A., Rodrigues, T.H.S., Fernandes, F.A.N., Pereira, A.L.F., Narain, N., Brito, E.S., Rodrigues, S.**, 2017, Chemometric evaluation of the volatile profile of probiotic melon and probiotic cashew juice, *Food Research International*, 99, 461-468p.
- Fijan, S.**, 2014, Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11, 4745-4767p.
- Franz, C.M.A.P., Huch, M., Abriouel, H., Holzapfel, W., Galvez, A.**, 2011, Enterococci as probiotics and their implications in food safety, *International Journal of Food Microbiology*, 151, 125-140p.
- Fredua-Agyeman, M., Stapleton, P., Basit, A.W., Gaisford, S.**, 2017, Microcalorimetric evaluation of a multi-strain probiotic: Interspecies inhibition between probiotic strains, *Journal of Functional Foods*, 36,357-361p.
- Hamdy, A.A., Elattal, N.A., Amin, M.A., Ali, A.E., Mansour, N.M., Awad, G.E.A., Farrag, A.R.H., Esawy, M.A.**, 2018, In vivo assessment of possible probiotic properties of *Bacillus subtilis* and prebiotic properties of levan, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 190-197p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Herz, C., Tran, H.T.T., Marton, M., Maul, R., Baldermann, S., Schreiner, M., Lamy, E.,** 2017, Evaluation of an aqueous extract from horseradish root (*Armoracia rusticana* Radix) against lipopolysaccharide-induced cellular inflammation reaction, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 1950692, 10p.
- Garcia, E.F., Araujo, A.O., Luciano, W.A., Albuquerque, T.M.R., Arcanjo, N.M.O., Madruga, M.S., Lima, M.S., Magnani, M., Saarela, M., Souza, E.L.,** 2018, The performance of five fruit-derived and freeze-dried potentially probiotic *Lactobacillus* strains in apple, orange and grape juices, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(13), 5000-5010p.
- Gayathri, D., Rashmi, B.S.,** 2017, Mechanism of development of depression and probiotics as adjuvant therapy for its prevention and management, *Mental Health ve Prevention*, 5, 40-51p.
- Gebara, C., Ribeiro, M.C.E., Chaves, K.S., Gandara, A.L.N., Gigante, M.L.,** 2015, Effectiveness of different methodologies for the selective enumeration of *Lactobacillus acidophilus* La-5 from yoghurt and prato cheese, *LWT - Food Science and Technology*, 64, 508-513p.
- Geier, M.S., Butler, R.N. and Howarth, G.S.,** 2007, Inflammatory bowel disease: Current insights into pathogenesis and new therapeutic options; probiotics, prebiotics and synbiotics, *International Journal of Food Microbiology*, 115,1-11p.
- Ghafari, S. and Ansari, S.,** 2018, Microbial viability, physico-chemical properties and sensory evaluation of pineapple juice enriched with *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* and inulin during refrigerated storage, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4), 2927-2935p.
- Gullian-Klanian, M. and Sanchez-Solis, M.J.,** 2018, Growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7 on the epicarp of fresh vegetables and fruits, *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(1), 104-111p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gupta, M., Bajaj, M. K.**, 2017, Development of fermented oat flour beverage as a potential probiotic vehicle, *Food Bioscience*, 20, 104-109p.
- Güven, K. and Benlikaya, N.**, 2005, Acid ph produced by lactic acid bacteria prevent the growth of *Bacillus cereus* in boza, a traditional fermented Turkish beverage, *Journal of Food Safety*, 25, 98-108p.
- Hsin-Yi, C. and Chou, C.C.**, 2001, Acid adaptation and temperature effect on the survival of *E. coli* O157:H7 in acidic fruit juice and lactic fermented milk product, *International Journal of Food Microbiology*, 70,189-195p.
- Hut, M. ve Ayar, A.**, 2013, Fonksiyonel özelliklere sahip probiyotik incir uyutması tatlısı üretimi, *SAÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 17, 147-153s.
- Iglesias, M.B., Abadias, M., Anguera, M., Sabata, J., Vinas, I.**, 2017, Antagonistic effect of probiotic bacteria against foodborne pathogens on fresh-cut pear, *LWT - Food Science and Technology*, 81, 243-249p.
- Istrati, D., Constantin, O., Vizireanu, C., Dinica, R.M.**, 2014, The study of antioxidant and antimicrobial activity of extracts for meat marinades, *Romanian Biotechnological Letters*, 19, 5.
- Jakobsen, T.H., Bragason, S.K., Phipps, R.K., Christensen, L.D., Gennip, M., Alhede, M., Skindersoe, M., Larsen, T.O., Hoiby, N., Bjarnsholt, T., Givskov, M.**, 2012, Food as a source for quorum sensing inhibitors: Iberin from horseradish revealed as a quorum sensing inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa*, *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 2410-2421p.
- Jung, D., Lee, S., Yoon, J., Hong, K., Kang, Y., Park, S., Park, S.K., Ha, S., Kim, G., Bae, D.**, 2009, Inhibition of pork and fish oxidation by a novel plastic film coated with horseradish extract, *LWT - Food Science and Technology*, 42, 856-861p.
- Kabak, B. and Özbey, F.**, 2012, Assessment of the bioaccessibility of aflatoxins from various food matrices using an in vitro digestion model, and the efficacy of probiotic bacteria in reducing bioaccessibility, *Journal of Food Composition and Analysis*, 27, 21-31p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kaiser, S.J., Mutters, N.T., Blessing, B., Günther, F.,** 2017, Natural isothiocyanates express antimicrobial activity against developing and mature biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*, *Fitoterapia*, 119, 57-63p.
- Kalita, D., Saikia, S., Gautam, G., Mukhopadhyay, R., Mahanta, C.L.,** 2018, Characteristics of synbiotic spray dried powder of litchi juice with *Lactobacillus plantarum* and different carrier materials, *LWT - Food Science and Technology*, 87,351-360p.
- Kandyliş, P., Pissaridi, K., Bekatorou, A., Kanellaki, M., Koutinas, A.A.,** 2016, Dairy and non-dairy probiotic beverages, *Current Opinion in Food Science*, 7,58-63p.
- Kavitake, D., Kandasamy, S., Devi, P.B., Shetty, P.H.,** 2017, Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods – a review, *Food Bioscience*, 21, 34-44p.
- Kazemi, A., Noorbala, A.A., Azam, K., Eskandari, M.H., Djafarian, K.,** 2019, Effect of probiotic and prebiotic vs placebo on psychological outcomes in patients with major depressive disorder: A randomized clinical trial, *Clinical Nutrition*, 38(2), 522-528p.
- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N., Fakiri, E.M.,** 2013, Health benefits of probiotics: A review, *International Scholarly Research Notices: Nutrition*, Article ID 481651, 7p.
- Kemsawasd, V. and Chaikham, P.,** 2018, Survival of probiotics in soyoghurt plus mulberry (*c.v.* Chiang Mai 60) leaf extract during refrigerated storage and their ability to tolerate gastrointestinal transit, *LWT-Food Science and Technology*, 93, 94-101p.
- Kim, H., Phan-a-god, S., Shin, I.,** 2015, Antibacterial activities of isothiocyanates extracted from horseradish (*Armoracia rusticana*) root against antibiotic-resistant bacteria, *Food Science and Biotechnology*, 24(3), 1029-1034p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Khalf, M., Dabour, N., Kheadr, E., Fliss, I.,** 2010, Viability of probiotic bacteria in maple sap products under storage and gastrointestinal conditions, *Bioresource Technology*, 101, 7966-7972p.
- Kojima, Y., Ohshima, T., Seneviratne, C.J., Maeda, N.,** 2016, Combining prebiotics and probiotics to develop novel synbiotics that suppress oral pathogens, *Journal of Oral Biosciences*, 58, 27-32p.
- Kondepudi, K.K., Ambalam, P., Nilsson, I., Wadström, T., Ljungh, A.,** 2012, Prebiotic-non-digestible oligosaccharides preference of probiotic bifidobacteria and antimicrobial activity against *Clostridium difficile*, *Anaerobe*, 18, 489-497p.
- Kun, S., Rezessy-Szabo, J.M., Nguyen, Q.D., Hoschke, A.,** 2008, Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains, *Process Biochemistry*, 43, 816-821p.
- Larsen, C.N., Nielsen, S., Kaestel, P., Brockmann, E., Bennedsen, M., Christensen, H.R., Eskesen, D.C., Jacobsen, B.L., Michaelsen, K.F.,** 2006, Dose-response study of probiotic bacteria *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* BB-12 and *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* CRL-341 in healthy young adults, *European Journal of Clinical Nutrition*, 60, 1284-1293p.
- Li, X.Y., Chen, X.G., Sun, Z.W., Park, H.J., Cha, D.,** 2011, Preparation of alginate/chitosan/carboxymethyl chitosan complex microcapsules and application in *Lactobacillus casei* ATCC 393, *Carbohydrate Polymers*, 83, 1479-1485p.
- Lichtenstein, L., Avni-Biron, I., Ben-Bassat, O.,** 2016, Probiotics and prebiotics in Crohn's disease therapies, *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 30, 81-88p.
- Luckow, T. and Delahunty, C.,** 2004, Which juice is healthier? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks, *Food Quality and Preference*, 15, 751-759p.
- Lupien-Meilleur, J., Roy, D., Lagace, L.,** 2016, Viability of probiotic bacteria in a maple sap beverage during refrigerated storage, *LWT - Food Science and Technology*, 74, 160-167p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Malganji, S., Sohrabvandi, S., Jahadi, M., Nematollahi, A., Sarmadi, B.,** 2016, Effect of refrigerated storage on sensory properties and viability of probiotic in grape drink, *Applied Food Biotechnology*, 3, 59-62p.
- Meng, J., Shi, T., Song, S., Zhang, Z., Fang, Y.,** 2017, Melatonin in grapes and grape-related food stuffs: A review, *Food Chemistry*, 231, 185-191p.
- Miranda, R.F., Paula, M.M., Costa, G.M., Barao, C.E., Silva, A.C.R., Raices, R.S.L., Gomes, R.G., Pimentel, T.C.,** 2019, Orange juice added with *L. casei*: Is there an impact of the probiotic addition methodology on the quality parameters?, *LWT-Food Science and Technology*, 106, 186-193p.
- Mohan, G., Guhankumar, P., Kiruththica, V., Santhiya, N., Anita, S.,** 2013, Probiotication of fruit juices by *Lactobacillus acidophilus*, *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 4, 72-77p.
- Moreno-Montoro, M., Olalla-Herrera, M., Gimenez-Martinez, R., Navarro-Alarcon, M., Rufian-Henares, J.,** 2015, Phenolic compounds and antioxidant activity of Spanish commercial grape juices, *Journal of Food Composition and Analysis*, 38, 19-26p.
- Mucete, D., Borozan, A., Radu, F., Jianu, I.,** 2006, Antimicrobial activity of isothiocyanates, active principles in *Armoracia Rusticana* Roots, *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 7, 443-452p.
- Muradoğlu, F., Pehlivan, M., Gündoğdu, M., Kaya, T.,** 2011, Iğdır yöresinde yetiştirilen bazı kayısı (*Prunus armeniaca l.*) genotiplerin fizikokimyasal özellikleri ile mineral içerikleri, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1, 17-22s.
- Mvuemba, H.N., Green, S.E. and Avis, A.T.T.,** 2009, Antimicrobial efficacy of cinnamon, ginger, horseradish and nutmeg extracts against spoilage pathogens, *Phytoprotection*, 63, 65-70p.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Sada, A., Orlando, P.,** 2008, Synbiotic potential of carrot juice supplemented with *Lactobacillus* spp. and inulin or fructooligosaccharides, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 2271-2276p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., Sada, A., Orlando, P.,** 2009, Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal conditions, *Journal of Functional Food*, 1, 319-323p.
- Nematollahi, A., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A.M., Jazaeri, S.,** 2016, Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage, *Electronic Journal of Biotechnology*, 21, 49-53p.
- Ng, Q.X., Peters, C., Ho, C.Y.X., Lim, D.Y., Yeo, W.,** 2018, A meta-analysis of the use of probiotics to alleviate depressive symptoms, *Journal of Affective Disorders*, 228, 13-19p.
- Nguyen, N.M., Gonda, S. and Vasas G.,** 2013, A Review on the phytochemical composition and potential medicinal uses of horseradish (*Armoracia rusticana*) root, *Food Reviews International*, 29, 261-275p.
- Nualkaekul, S., Salmeron, I. and Charalampopoulos D.,** 2011, Investigation of the factors influencing the survival of *Bifidobacterium longumin* model acidic solutions and fruit juices, *Food Chemistry*, 129, 1037-1044p.
- Nualkaekul, S., Lenton, D., Cook, M.T., Khutoryanskiy, V.V., Charalampopoulos, D.,** 2012, Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in pomegranate juice, *Carbohydrate Polymers*, 90, 1281-1287p.
- Oh, B., Jeong, S., Velmurugan, P., Park, J., Jeong, D.,** 2017, Probiotic-mediated blueberry (*Vaccinium corymbosum*L.) fruit fermentation to yield functionalized products for augmented antibacterial and antioxidant activity, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 124,542-550p.
- Onoğur, T., Elmacı, Y.,** 2015, Gıdalarda Duyusal Değerlendirme, Sidas Medya, 010-2B, 50-61s.
- Öncül, N. and Karabiyikli, Ş.,** 2016, Survival of foodborne pathogens in unripe grape products, *LWT - Food Science and Technology*, 74, 168-175p.
- Pakbin, B., Razavi, S.H., Mahmoudi, R., Gajarbeygi, P.,** 2014, Producing probiotic peach juice, *Biotechnology and Health Sciences*, 1(3), 24683p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Park, H.W., Choi, K.D. and Shin, I.S.**, 2013, Antimicrobial activity of isothiocyanates (ITCs) extracted from horseradish (*Armoracia rusticana*) root against oral microorganisms, *Biocontrol Science*, 18(3), 163-168p.
- Patel, A.R.**, 2017, Probiotic fruit and vegetable juices- recent advances and future perspective, *International Food Research Journal*, 24, 1850-1857p.
- Peredo, A.G., Beristain, C.I., Pascual, L.A., Azuara, E., Jimenez, M.**, 2016, The effect of prebiotics on the viability of encapsulated probiotic bacteria, *LWT - Food Science and Technology*, 73, 191-196p.
- Pereira, A.L.F., Maciel, T.C., Rodrigues, S.**, 2011, Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*, *Food Research International*, 44, 1276-1283p.
- Perez, L.R.R., Freitas, A.L.P., Barth, A.L., Dias, C.A.G.**, 2014, Direct disk diffusion susceptibility testing from respiratory tract specimens: focus on *Pseudomonas aeruginosa*, *International Journal of Infectious Diseases*, 26, 47-48p.
- Perricone, M., Corbo, M.R., Sinigaglia, M., Speranza, B., Bevilacqua, A.**, 2014, Viability of *Lactobacillus reuteri* in fruit juices, *Journal of Functional Foods*, 10, 421-426p.
- Petrovic, S., Drobac, M., Usjak, L., Filipovic, V., Milenkovic, M., Niketic, M.**, 2017, Volatiles of roots of wild-growing and cultivated *Armoracia macrocarpa* and their antimicrobial activity, in comparison to horseradish, *A. rusticana*, *Industrial Crops and Products*, 109, 398-403p.
- Pimentel, T.C., Madrona, G.S., Prudencio, S.H.**, 2015, Probiotic clarified apple juice with oligofructose or sucralose as sugar substitutes: Sensory profile and acceptability, *LWT - Food Science and Technology*, 62, 838-846p.
- Pirbaglou, M., Katz, J., Souza, R.J., Stearns, J.C., Motamed, M., Ritvo, P.**, 2016, Probiotic supplementation can positively affect anxiety and depressive symptoms: a systematic review of randomized controlled trials, *Nutrition Research*, 36, 889-898p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Porto, M.R.A., Okina, V.S., Pimentel, T.C., Garcia, S., Prudencio, S.H.,** 2018, Beet and orange mixed juices added *Lactobacillus acidophilus*, *Nutrition and Food Science*, 48(1), 76-87p.
- Prabhurajeshwar, C. and Chandrakanth, R.K.,** 2017, Probiotic potential of *Lactobacilli* with antagonistic activity against pathogenic strains: An *in vitro* validation for the production of inhibitory substances, *Biomedical Journal*, 40, 270-283p.
- Prado, F.C., Parada, J.L., Pandey, A., Soccol, C.R.,** 2008, Trends in non-dairy probiotic beverages, *Food Research International*, 41, 111-123p.
- Pranckute, R., Kaunietis, A., Kuisiene, N., Citavicius, D.J.,** 2016, Combining prebiotics with probiotic bacteria can enhance bacterial growth and secretion of bacteriocins, *International Journal of Biological Macromolecules*, 89,669-676p.
- Randazzo, C.L., Pitino, I., Licciardello, F., Muratore, G., Caggio, C.,** 2013, Survival of *Lactobacillus rhamnosus* probiotic strains in peach jam during storage at different temperatures, *Food Science and Technology*, 33, 652-659p.
- Rascon, M. P., Huerta-Vera, K., Pascual-Pineda, L. A., Contresas-Oliva, A., Flores-Andrade, E., Castillo-Morales, M., Bonilla, E., Gonzales-Morales, I.,** 2018, Osmotic dehydration assisted impregnation of *Lactobacillus rhamnosus* in banana and effect of water activity on the storage stability of probiotic in the freeze-dried product, *LWT- Food Science and Technology*, 92, 490-196p.
- Renuka, B., Kulkarni, S.G., Vijayanand, P., Prapulla, S.G.,** 2009, Fructooligosaccharide fortification of selected fruit juice beverages: Effect on the quality characteristics, *LWT - Food Science and Technology*, 42, 1031-1033p.
- Rodrigues, D., Sousa, S., Gomes, A.M., Pintado, M.M., Silva, J.P., Costa, P., Amaral, M.H., Rocha, T., Freitas, A.C.,** 2012, Storage stability of *Lactobacillus paracasei* as free cells or encapsulated in alginate-based microcapsules in low ph fruit juices, *Food Bioprocess Technology*, 5, 2748-2757p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rodrigues, S., Silva, L.C.A., Mulet, A., Carcel, J.A., Fernandes, F.A.N.,** 2018, Development of dried probiotic apple cubes incorporated with *Lactobacillus casei* NRRL B-442, *Journal of Functional Foods*, 41,48-54p.
- Röble, C., Aunty, M.A.E., Brunton, N., Gormley, R.T., Butler, F.,** 2010, Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 203-209p.
- Russo, P., Chiara, M.L.V., Capozzi, V., Arena, M.T., Amodio, M.L., Rascon, A., Duenas, M.T., Lopez, P., Spano, G.,** 2016, *Lactobacillus plantarum* strains for multifunctional oat-based foods, *LWT-Food Science and Technology*, 68, 288-294p.
- Quigley, E.M.M.,** 2010, Prebiotics and probiotics; modifying and mining the microbiota, *Pharmacological Research*, 61,213-218p.
- Saladino, F., Posarelli, E., Luz, C., Luciano, F.B., Rodriguez-Estrada, M.T., Manes, J., Meca, G.,** 2018, Influence of probiotic microorganisms on aflatoxins B1 and B2 bioaccessibility evaluated with a simulated gastrointestinal digestion, *Journal of Food Composition and Analysis*, 68, 128-132p.
- Sales, M. D. C., Costa, H. B., Fernandes, P. M. B., Ventura, J. A., Meira, D. D.,** 2016, Antifungal activity of plant extracts with potential to control plant pathogens in pineapple, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6 (1), 26-31p.
- Salmeron, I., Thomas, K. and Pandiella, S.S.,** 2015, Effect of potentially probiotic lactic acid bacteria on the physicochemical composition and acceptance of fermented cereal beverages, *Journal of Functional Foods*, 15, 106-115p.
- Sanders, E.,** 2012, Aseptic laboratory techniques: Plating methods, *Journal of Visualized Experiments*-Video Article, 63, e3064.
- Savignac, H.M., Tramullas, M., Kiely, B., Dinan, T.G., Cryan, J.F.,** 2015, Bifidobacteria modulate cognitive processes in an anxious mouse strain, *Behavioural Brain Research*, 287, 59-72p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sheehan, V.M., Ross, P., Fitzgerald, G.F.**, 2007, Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8, 279-284p.
- Sheng, L., Olsen, S.A., Hu, J., Yue, W., Means, W.J., Zhu, M.J.**, 2016, Inhibitory effects of grape seed extract on growth, quorum sensing, and virulence factors of CDC “top-six” non-O157 Shiga toxin producing *E. coli*, *International Journal of Food Microbiology*, 229, 24-32p.
- Shi, L., Li, Z., Li, D., Xu, M., Chen, H., Zhang, Z., Tang, Z.**, 2013, Encapsulation of probiotic *Lactobacillus bulgaricus* in alginate–milk microspheres and evaluation of the survival in simulated gastrointestinal conditions, *Journal of Food Engineering*, 117, 99-104p.
- Shin, I., Han, J., Choi, K., Chung, D., Choi, G., Ahn, J.**, 2010, Effect of isothiocyanates from horseradish (*Armoracia rusticana*) on the quality and shelf life of tofu, *Food Control*, 21, 1081-1086p.
- Sireswar, S., Dey, G., Sreesoundarya, T.K., Sarkar, D.**, 2017, Design of probiotic-fortified food matrices influence their antipathogenic potential, *Food Bioscience*, 20, 28-35p.
- Sohail, A., Turner, M.S., Prabawati, E.K., Coombes, A.G.A., Bhandari, B.**, 2012, Evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus acidophilus* NCFM encapsulated using a novel impinging aerosol method in fruit food products, *International Journal of Food Microbiology*, 157, 162-166p.
- Su, P., Henriksson, A. and Mitchell, H.**, 2007, Selected prebiotics support the growth of probiotic mono-cultures *in vitro*, *Anaerobe*, 13, 134-139p.
- Tedeschi, P., Leis, M., Pezzi, M., Civolani, S., Maietti, A., Brandolini, V.**, 2011, Insecticidal activity and fungitoxicity of plant extracts and components of horseradish (*Armoracia rusticana*) and garlic (*Allium sativum*), *Journal of Environmental Science and Health*, 46 (6), 486-490p.
- Tejero-Sariñena, S., Barlow, J., Costabile, A., Gibson, G.R., Rowland, I.**, 2012, In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: Evidence for the effects of organic acids, *Anaerobe*, 18, 530-538p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Thirabunyanon, M. and Thongwittaya, N.**, 2012, Protection activity of a novel probiotic strain of *Bacillus subtilis* against *Salmonella* Enteritidis infection, *Research in Veterinary Science*, 93, 74-81p.
- Tripathi, M.K. and Giri S.K.**, 2014, Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage, *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241p.
- Tomsone, L., Kruma, Z. And Galoburda, R.**, 2013, Composition of volatile compounds of horseradish roots (*Armoracia rusticana* L.) depending on the genotype, *Proceedings of the Latvia University of Agriculture*, 29, 324p.
- Toscano, L.T., Silva, A.S., Toscano, L.T., Tavares, R.L., Biasoto, A.C.T., Camargo, A.C., Silva, C.S.O., Goncalves, M.C.R., Shahidi, F.**, 2017, Phenolics from purple grape juice increase serum antioxidant status and improve lipid profile and blood pressure in healthy adults under intense physical training, *Journal of Functional Foods*, 33,419-424p.
- Tournas, V.H. and Katsoudas E.**, 2005, Mould and yeast flora in fresh berries, grapes and citrus fruits, *International Journal of Food Microbiology*, 105, 11-17p.
- Tournas, V.H., Heeres, J. and Burgess L.**, 2006, Moulds and yeasts in fruit salads and fruit juices, *Food Microbiology*, 23, 684-688p.
- Tsiraki, M. I., Yehia, H. M., Elobeid, T., Osaili, T., Sakkas, H., Havvaidis, I. N.**, 2018, Viability of and *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in a delicatessen appetizer (yogurt-based) salad as affected by citrus extract (Citrox©) and storage temperature, *Food Microbiology*, 69, 11-17p.
- Tüfekçi, H.B. ve Fenercioğlu, H.**, 2010, Türkiye’de üretilen bazı ticari meyve sularının kimyasal özellikler açısından gıda mevzuatına uygunluğu, *Akademik Gıda*, 8 (2), 11-17s.
- Valero-Cases, E. and Frutos, M.J.**, 2017, Development of prebiotic nectars and juices as potential substrates for *Lactobacillus acidophilus*: Special reference to physicochemical characterization and consumer acceptability during storage, *LWT - Food Science and Technology*, 81, 136-143p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vasconcelos, B.G., Martinez, R.C.R., Castro, I.A., Saad, S.M.I.**, 2014, Innovative açai (*Euterpe oleracea*, Mart., *Arecaceae*) functional frozen dessert exhibits high probiotic viability throughout shelf-life and supplementation with inulin improves sensory acceptance, *Food Science and Biotechnology*, 23(5), 1843-1849p.
- Vetas, D., Dimitropoulou, E., Mitropoulou, G., Kourkoutas, Y., Giaouris, E.**, 2017, Disinfection efficiencies of sage and spearmint essential oils against planktonic and biofilm *Staphylococcus aureus* cells in comparison with sodium hypochlorite, *International Journal of Food Microbiology*, 257, 19-25p.
- Ward, S.M., Delaquis, P.J. and Holley, R.A.**, 1998, Inhibition of spoilage and pathogenic bacteria on agar and pre-cooked roast beef by volatile horseradish distillates, *Food Research International*, 31, 19-26p.
- Yasmin, A., Butt, M.S., Afzaal, M., Baak, M., Nadeem, M.T., Shahid, M.Z.**, 2015, Prebiotics, gut microbiota and metabolic risks: Unveiling the relationship, *Journal of Functional Foods*, 17, 189-201p.
- Yoon, K.Y., Woodams, E.E. and Hang, Y.D.**, 2004, Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria, *The Journal of Microbiology*, 42, 315-318p.
- Yoon, K.Y., Woodams, E.E. and Hang, Y.D.**, 2006, Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria, *Bioresource Technology*, 97, 1427-1430p.
- Zuanazzi, C., Maccari, P.A., Beninca, S.C., Branco, S.C., Theodoro, H., Vanderlinde, R., Siviero, J., Salvador, M.**, 2019, White grape juice increases HDL cholesterol and reduces body mass index, abdominal and waist circumference in women, *Nutrition*, 57, 109-114p.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca akademik bilgisi ve tecrübeleri ile beni destekleyen saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Gülten GÜNDÜZ'e, laboratuvar çalıőmalarıma yardımları ile Tekn. Figen BECERİK ve Tekn. Tülay ÖZEL'e, manevi destekleri nedeni ile arkadaşlarıma ve sevgili ailem Glen ve Muammer GRAL'a teőekkürlerimi sunarım.

Bu alıőma Ege Üniversitesi Bilimsel Araőtırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 18-MH-010 numaralı proje kapsamında desteklenmiőtir. Projenin gerekleőtmesinde gereken maddi desteği sağlayan Ege niversitesi'ne teőekkürlerimi sunarım.

20/ 08/ 2019

Burcu Sıla Göral

ÖZGEÇMİŞ

Burcu Sıla Göral, 17.05.1991 tarihinde Ankara’da doğmuştur. Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde 2014 yılında lisans diplomasını aldıktan sonra, 2016 yılında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde Gıda Bilimleri Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine devam etmiştir.

Ulusal dergilerde yayınlanan yayınları

Makale;

-Göral, B.S., Gündüz, G.T., 2018. Bitkisel Gıdalarda Probiyotik Mikroorganizmaların Kullanımı. Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 6(12): 1741-1750.

Ulusal ve uluslararası konferanslardaki sözlü ve poster bildirileri

Bildiri;

-Göral, B.S., Gündüz, G.T., 2018. Survival of *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* in Traditional Grape Pickles. 2nd International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies, ICAFOF 2018 Proceeding Book, 509 pp., Çeşme-İzmir, Turkey, 2-5 April 2018 (Oral Presentation).

-Göral, B.S., Gündüz, G.T., 2018. Antimicrobial efficacy of horseradish (*Armoracia rusticana*) extracts. 26th International ICFMH Conference-FoodMicro 2018 Book of Abstracts, 342 pp., Berlin, Germany, 3-6 September 2018 (Poster Presentation).

EKLER

Ek-1 Duyusal Analiz Formu



Ek-1 Duyusal Analiz Formu

Ad Soyad

Tarih:

Lütfen aşağıdaki ifadeler içerisinde size sunulan ürün hakkına hissettiğiniz yanıtı işaretleyiniz.

1: hiç beğenmedim 2: az beğendim 3: orta derecede beğendim 4:
beğendim 5: çok beğendim

Örnek	Tat	Renk	Koku	Genel Beğeni
145				
234				
792				
418				