



**KEFİR MİKROBİYOTASININ BELİRLENMESİ
VE ELDE EDİLEN SUŞLARLA ÜRETİLEN
KEFİRLERİN BAZI KALİTE
PARAMETRELERİNİN TESPİTİ**

Burcu BAZU ÇIRPICI

Danışman: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

Doktora Tezi

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

2024

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**KEFİR MİKROBİYOTASININ BELİRLENMESİ VE ELDE EDİLEN SUŞLARLA
ÜRETİLEN KEFİRLERİN BAZI KALİTE PARAMETRELERİNİN TESPİTİ**

(Identification of Kefir Microbiota and Determination of Some Quality Parameters of Kefirs
Produced with Obtained Strains)

DOKTORA TEZİ

Burcu BAZU ÇIRPICI

Danışman: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

Erzurum
Ocak, 2024

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Burcu BAZU ÇIRPICI tarafından hazırlanan “Kefir Mikrobiyotasının Belirlenmesi ve Elde Edilen Suşlarla Üretilen Kefirlerin Bazı Kalite Parametrelerinin Tespiti” başlıklı çalışması 25 /01 / 2024 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gıda Mühendisliği Bilim Dalında doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Remziye YILMAZ <i>Hacettepe Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Prof. Dr. Bülent ÇETİN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Zülal KESMEN <i>Üniversite Adı</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Neslihan DİKBAŞ <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdür

Aslı Islak İmzalıdır

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: FDK-2021-9678

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak Prof. Dr. Bülent ÇETİN danışmanlığında sunulan “Kefir Mikrobiyotasının Belirlenmesi ve Elde Edilen Suşlarla Üretilen Kefirlerin Bazı Kalite Parametrelerinin Tespiti” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	5	30
Kuramsal Temeller	19	30
Materyal ve Metot	10	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	6	20
Sonuçlar	2	20
Tezin Geneli	12	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Burcu BAZU ÇIRPICI	Prof. Dr. Bülent ÇETİN
25.1.2024	25.1.2024
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☒ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmam boyunca her türlü bilgi ve birikiminden faydalandığım, bilimsel bakış açısı ve vizyonu ile bana ufuk açan, çalışmamda büyük emeği ve katkısı olan, yardım ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, yanına gidip soru sormaktan asla çekinmediğim değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Bülent ÇETİN'e,

Görüş ve önerileriyle tez çalışmama katkı sağlayan Doktora Tez İzleme Komitesi üyeleri Sayın Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR ve Prof. Dr. Neslihan DİKBAŞ'a

Tez çalışmamı maddi olarak destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Proje No: FDK-2021-9678),

Hayatımın her anında maddi ve manevi tüm desteklerini hissettiğim, beni asla yalnız bırakmayan annem Sakine BAZU, babam Kadir BAZU ve kardeşim Oral BAZU'ya, kefir danelerini bulmama yardımcı olan sevgili aileme ve danelerini gönüllü olarak paylaşan kefir gönüllülerine, tüm doktora sürecimde beni asla yalnız bırakmayan, büyük sabır ve özveri gösteren ve her zaman desteğini hissettiğim değerli eşim Burak Kaan ÇIRPICI'ya ve biricik oğlum Aybars'ıma,

Tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Burcu BAZU ÇIRPICI

ÖZET

DOKTORA TEZİ

KEFİR MİKROBİYOTASININ BELİRLENMESİ VE ELDE EDİLEN SUŞLARLA ÜRETİLEN KEFİRLERİN BAZI KALİTE PARAMETRELERİNİN TESPİTİ

Burcu BAZU ÇIRPICI

Danışman: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

Amaç: Bu çalışmada, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden elde edilen 30 farklı kefir danesinin mikrobiyotası belirlenmeye çalışılmış ve toplam 501 suş izole edilmiştir. Bu izolatların teknolojik ve probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan analizler sonucunda kefir üretiminde kullanılabilecek izolatlar belirlenerek bakteriler ve mayalardan oluşan kefir, sadece bakterilerden oluşan kefir üretilmiştir. Bu kefirlerin 21 günlük depolama süresi boyunca bazı mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyuşsal özellikleri incelenmiştir.

Yöntem: Kefir danelerinden elde edilen izolatların teknolojik (farklı sıcaklık ve pH'da gelişim, glikozdan gaz oluşumu, arjinin hidrolizi, ekzopolisakkarit üretimi) ve probiyotik (safraya direnç, simüle mide ortamına tolerans, antagonistik aktivite, oto-agregasyon ve ko-agregasyon, hidrofobisite, antibiyotik direnci, virülans faktör, hemolitik aktivite, safra tuzlarını hidrolize etme yeteneği ve DNase aktivitesi) özellikleri incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda izolatlar arasından starter kültür olarak kullanılabilecek izolatlar seçilmiş ve 2 farklı kefir üretimi gerçekleştirilmiştir. Böylece starter kültür farklılığının üretilen kefirlerin bazı özellikleri üzerine etkisi 21 günlük depolama boyunca incelenmiştir.

Bulgular: Çalışmada izole edilen 463 kefir izolatlarından, bakteri izolatlarından 153'ünün, maya izolatlarından ise 78 izolatın safra tuzlarına direnç gösterdiği bulunmuştur. Bu izolatlardan da 78 bakteri ve 46 maya suşunun simüle mide sıvısını tolere edip canlı kalabildiği tespit edilmiştir. Mide sıvısını tolere eden suşlardan, beş farklı bakteri (*Lb. kefiranofaciens* 74, *Len. kefiri* 34, *Leu. mesenteroides* 117, *Lc. lactis* 249 ve *A. cibinongensis* 286) ve iki farklı maya izolatının (*Kluy. marxianus* 502 ve *Sacc. cerevisiae* 568) kefir üretimi için uygun olduğu belirlenmiştir. Üretilen kefirlerin bazı özelliklerinin starter kültür çeşidi ve depolamayla değiştiği görülmüştür. Ek olarak kefir örneklerine yapılan duyuşsal analizler sonucunda, sadece bakterilerden oluşan kefirin panelistler tarafından daha çok beğenildiği bulunmuştur.

Sonuç: Yapılan çalışmada elde edilen izolatların probiyotiklik özelliklerinin güçlü olduğu görülmüştür. Kefir danesinin patojen mikroorganizmalarla kontamine olması ihtimali nedeniyle, starter kültürlerle daha güvenilir kefirin üretilebileceği görülmüştür. Ayrıca, çalışmada üretilen kefirlerin genel olarak kontrol kefir örneğinden daha çok beğenildiği ve bu izolatların ülkemiz endüstrisi için değerli olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: kefir, kefir bakterisi, kefir mayası, izolasyon, identifikasyon, probiyotik, starter kültür, üretim

Ocak 2024, 238 sayfa

ABSTRACT

DOCTORAL DISSERTATION

IDENTIFICATION OF KEFIR MICROBIOTA AND DETERMINATION OF SOME QUALITY PARAMETERS OF KEFIRS PRODUCED WITH OBTAINED STRAINS

Burcu BAZU ÇIRPICI

Supervisor: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

Purpose: In this study, the microbiota of 30 different kefir grains obtained from various regions of Türkiye was attempted to be determined, and a total of 501 strains were isolated. The aim of this study was to determine the technological and probiotic properties of these isolates. As a result of the conducted analyses, isolates that can be used in kefir production were identified, and kefir samples consisting of both bacteria and yeasts, as well as kefir composed solely of bacteria, were produced. The microbiological, physicochemical, and sensory properties of these kefirs were examined over a 21-day storage period.

Method: The technological (growth at different temperatures and pH, gas formation from glucose, arginine hydrolysis, exopolysaccharide production) and probiotic (resistance to bile, tolerance to simulated gastric juice, antagonistic activity, auto-aggregation and co-aggregation, hydrophobicity, antibiotic resistance, virulence factor, hemolytic activity, bile salts hydrolyse, and DNase activity) properties of the isolates obtained from kefir grains were investigated. As a result of the analyses, the isolates that could be used as starter cultures were selected, and two different kefir samples were produced. Therefore, the impact of starter culture diversity on certain characteristics of the produced kefirs was examined during 21 days of storage.

Findings: In the study, it was found that out of the 463 kefir isolates, 153 bacterial isolates and 78 yeast isolates exhibited resistance to bile salts. It was also determined that out of these isolates, 78 bacterial strains and 46 yeast strains could tolerate and remain viable in the simulated gastric juice. It was further identified that five different bacterial (*Lb. kefirano* 74, *Len. kefir* 34, *Leu. mesenteroides* 117, *Lc. lactis* 249, and *A. cibirongensis* 286) and two different yeast isolates (*Kluy. marxianus* 502 and *Sacc. cerevisiae* 568), which can tolerate simulated gastric juice, were suitable for kefir production. The study revealed that certain characteristics of the produced kefirs changed with the type of starter culture and storage. Additionally, sensory analysis of the kefir samples indicated that kefir composed solely of bacteria was preferred by the panellists.

Results: The isolates obtained in the study were observed to have strong probiotic properties. Due to the possibility of contamination of kefir grains with pathogenic microorganisms, it was suggested that a more reliable kefir could be produced using starter cultures. In addition, the kefirs produced in the study were generally more preferred than the control kefir sample, and it is considered that these isolates could be valuable for our country's industry.

Keywords: kefir, kefir bacteria, kefir yeast, isolation, identification, probiotic, starter culture, production

Ocak 2024, 238 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	xvi
GİRİŞ	1
KURAMSAL TEMELLER	3
Kefir	3
Kefir Danesi.....	5
Kefirin Mikrobiyotası.....	7
Kefirin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	15
Kefir Üretimi	16
Kefir Danelerinin Muhafazası	19
Kefirin Sağlık Üzerine Etkisi	20
Kefir ile ilgili yapılan çalışmalar	25
MATERYAL ve YÖNTEM	31
Materyal	31
Metot	33
Kefir danesinde yapılan mikrobiyolojik analizler	33
Muhtemel laktik asit, asetik asit bakterilerinin ve mayaların izolasyonu	34
İzolatların fenotipik karakterizasyonu	34
İzolatların genotipik karakterizasyonu ve tanılanması.....	35
İzolatların Probiyotik Karakterizasyonu	41
İzolatların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi	47
Elde edilen suşlarla kefir üretimi.....	48
Kefirlerin mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi	52
Kefirlerin bazı fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi	52
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	56
Kefir Danelerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	56
Kefir Danelerinden Muhtemel Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu	59

Muhtemel Asetik Asit Bakterilerinin İzolasyonu.....	60
Maya Suşlarının İzolasyonu	61
İzole Edilen Muhtemel Laktik ve Asetik Asit Bakterilerinin Ön Değerlendirilmesi.....	62
Gram Boyama	63
Katalaz testi	64
İzole Edilen Maya Suşlarının Ön Değerlendirilmesi	69
Muhtemel Laktik ve Asetik Asit Bakterilerinin Moleküler Olarak Tanılanması	70
Muhtemel Laktik ve Asetik Asit Bakterilerinin 16S-rRNA PCR ile Tanılanması	71
Laktik Asit Bakterilerinin Türe Spesifik Primerlerle Tanılanması	77
Maya İzolatlarının Moleküler Olarak Tanılanması	78
Mayaların 28S-rRNA PCR ile Tanılanması	79
İzolatların Probiyotik Karakterizasyonu	82
Safra tuzlarına tolerans.....	82
Mide ortamına dayanıklılık.....	89
Oto ve ko-agregasyon	98
Hidrofobisite	107
Hemolitik aktivite	111
DNase aktivitesi.....	114
Safra tuzu hidrolaz aktivitesi	115
Antibiyotik Direnci	117
Kefir izolatlarının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi.....	126
Virülans faktör genlerin tespiti	132
İzolatların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi	134
Farklı sıcaklarda gelişimin belirlenmesi	135
Farklı pH'larda gelişimin belirlenmesi	140
Glikozdan gaz oluşumu.....	145
Arjinin hidrolizi	148
İzolatların EPS üretim yeteneğinin belirlenmesi	151
Üretimde Kullanılan Suşların Seçimi.....	152
Elde edilen izolatlar kullanılarak kefir üretimi ve üretilen kefirlerin bazı özelliklerinin incelenmesi	152
Kefirlerin mikrobiyolojik özellikleri	153
Kefirlerin fizikokimyasal özellikleri	161
Duyusal analiz	181
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	191

KAYNAKLAR.....	195
EKLER.....	216
EK-1. Duyusal Analiz için Etik Kurul Onay Belgesi	216
EK-2. Çalışma Kapsamında Üretilen Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Bazı Analiz Özellikleri Arasındaki Korelasyon.....	217
ÖZGEÇMİŞ.....	218



TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 1. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne Göre Kefirin Ürün Özellikleri	4
Tablo 2. Codex Alimentarius Standard'ına Göre Kefirin Ürün Özellikleri.....	5
Tablo 3. Kefir Danesinde Bulunan <i>Lactobacillus</i> Türleri.....	9
Tablo 4. Kefir Danesinde Bulunan Diğer Bakteri Türleri	11
Tablo 5. Kefir Danesinde Bulunan Maya Türleri.....	13
Tablo 6. Kefirde Bulunan Bazı Kimyasal Bileşenler ve Besinsel Değer.....	15
Tablo 7. Çalışmada Kullanılan Kefir Danelerine Ait Genel Bilgiler	31
Tablo 8. Çalışmada Kullanılan Primerler	39
Tablo 9. Üretimde Kullanılan İnek Sütünün Bazı Fizikokimyasal Özellikleri	51
Tablo 10. Çalışmada Kullanılan Duyusal Analiz Form Örneği	54
Tablo 11. Kefir Danelerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları (log kob/gr)	58
Tablo 12. Kefir Danelerinin Mikrobiyolojik Özelliklerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması	59
Tablo 13. Kefir Danelerinden İzole Edilen Muhtemel Laktik Asit Bakterilerinin İzolat Numarası ve Sayısı	60
Tablo 14. Kefir Danelerinden İzole Edilen Muhtemel Asetik Asit Bakterilerinin İzolat Numarası ve Sayısı	61
Tablo 15. Kefir Danelerinden İzole Edilen Mayaların İzolat Numarası ve Sayısı	62
Tablo 16. Kefir Danelerinden Elde Edilen MRS İzolatlarının Gram, Katalaz ve Mikroskopik Özellikleri	65
Tablo 17. Kefir Danelerinden Elde Edilen M17 İzolatlarının Gram, Katalaz ve Mikroskopik Özellikleri	66
Tablo 18. Kefir Danelerinden Elde Edilen GYC İzolatlarının Gram, Katalaz ve Mikroskopik Özellikleri	68
Tablo 19. Kefir Danelerinden Elde Edilen MRS İzolatlarının 16S-rRNA PCR ile Tanı Sonuçları.....	72
Tablo 20. Kefir Danelerinden Elde Edilen M17 İzolatlarının 16S-rRNA PCR ile Tanı Sonuçları.....	73
Tablo 21. Kefir Danelerinden Elde Edilen GYC İzolatlarının 16S-rRNA PCR ile Tanı Sonuçları.....	75

Tablo 22. Kefir Danelerinden Elde Edilen PDA İzolatlarının 28S-rRNA PCR ile Tanı	
Sonuçları	80
Tablo 23. İzole Edilen Kefir Bakterilerinin MRS Broth Besiyerinde Safra Tuzlarındaki	
Gelişimi	83
Tablo 24. İzole Edilen Kefir Bakterilerinin M17 Broth Besiyerinde Safra Tuzlarındaki	
Gelişimi	85
Tablo 25. İzole Edilen Kefir Bakterilerinin SM Broth Besiyerinde Safra Tuzlarındaki	
Gelişimi	86
Tablo 26. İzole Edilen Kefir Mayalarının YPD Broth Besiyerinde Safra Tuzlarındaki	
Gelişimi	87
Tablo 27. MRS Besiyerinden İzole Edilen Muhtemel Probiyotik İzolatların Simüle Mide	
Ortamına Toleransları	90
Tablo 28. M17 ve GYC Besiyerinden İzole Edilen Muhtemel Probiyotik İzolatların	
Simüle Mide Ortamına Toleransları	93
Tablo 29. PDA Besiyerinden İzole Edilen Muhtemel Probiyotik İzolatların Simüle Mide	
Ortamına Toleransları	95
Tablo 30. Bakteri İzolatlarının Oto-agregasyon Yüzdeleri.....	99
Tablo 31. Maya İzolatlarının Oto-agregasyon Yüzdeleri	100
Tablo 32. Bakteri İzolatlarının Ko-agregasyon Yüzdeleri.....	103
Tablo 33. Maya İzolatlarının Ko-agregasyon Yüzdeleri.....	105
Tablo 34. Bakteri İzolatlarının Hidrofobisite Yüzdeleri	109
Tablo 35. Maya İzolatlarının Hidrofobisite Yüzdeleri.....	110
Tablo 36. Bakteri ve Maya İzolatlarının Hemolitik Aktiviteleri	113
Tablo 37. Bakteri ve Maya İzolatlarının DNase Aktivesi.....	115
Tablo 38. Bakteri ve Maya İzolatlarının Safra Tuzu Hidrolaz Aktivitesi.....	117
Tablo 39. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnci İnhibisyon Zon Çapları	119
Tablo 40. Maya İzolatlarının Antifungal Direnç İnhibisyon Zon Çapları	121
Tablo 41. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnç Profili ve MAR İndeksleri	124
Tablo 42. Maya İzolatlarının Antifungal Direnç Profili ve MAR İndeksleri	125
Tablo 43. Muhtemel Probiyotik Bakteri İzolatlarının Antimikrobiyal Aktivite Özellikleri	
(inhibisyon zon çapı, mm)*	128
Tablo 44. Muhtemel Probiyotik Maya İzolatlarının Antimikrobiyal Aktivite Özellikleri	
(inhibisyon zon çapı, mm)*	130
Tablo 45. Bakteri İzolatlarının Virülans Faktör Genleri	133
Tablo 46. İzole Edilen Kefir Bakterilerinin Farklı Sıcaklıklarda Gelişimi.....	137

Tablo 47. İzole Edilen Kefir Mayalarının Farklı Sıcaklıklarda Gelişimi	139
Tablo 48. İzole Edilen Kefir Bakterilerinin Farklı pH Değerlerindeki Gelişimi.....	142
Tablo 49. İzole Edilen Kefir Mayalarının Farklı pH Değerlerinde Gelişimi.....	144
Tablo 50. Bakteri İzolatlarının Glikozdan Gaz Oluşturma Yeteneği.....	146
Tablo 51. Bakteri İzolatlarının Arjinin Hidrolizi.....	149
Tablo 52. EPS Üretimiyle İlgili Genlerin Taranması.....	151
Tablo 53. Çalışmada Üretilen Kefir Çeşitleri ve Kullanılan İzolatlar.....	153
Tablo 54. Kefir Örneklerinin Depolama Süresince Mikrobiyolojik Özellikleri (log kob/mL)	154
Tablo 55. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Mikrobiyolojik Özelliklerine Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	155
Tablo 56. Kefir Örneklerine Ait Laktik Basil Sayım Sonuçları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	156
Tablo 57. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Laktik Basil Sayım Sonuçları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	156
Tablo 58. Kefir Örneklerine Ait Laktik Kok Sayım Sonuçları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	157
Tablo 59. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Laktik Kok Sayım Sonuçları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	158
Tablo 60. Kefir Örneklerine Ait Maya Sayım Sonuçları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	159
Tablo 61. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Maya Sayım Sonuçları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	159
Tablo 62. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca pH, Asitlik, Su Tutma Kapasiteleri ve Serum Ayrılması	162
Tablo 63. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Fizikokimyasal Özelliklerine Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	163
Tablo 64. Kefir Örneklerine Ait pH Değerlerinin Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	164
Tablo 65. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca pH Değerlerinin Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	164
Tablo 66. Kefir Örneklerine Ait Asitlik Değerlerinin Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	166
Tablo 67. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Asitlik Değerlerinin Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	167

Tablo 68. Kefir Örneklerine Ait Su Tutma Kapasitesi Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	168
Tablo 69. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Su Tutma Kapasitesi Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	169
Tablo 70. Kefir Örneklerine Ait Serum Ayrılması Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	170
Tablo 71. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Serum Ayrılması Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	171
Tablo 72. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Viskozite Değerleri	173
Tablo 73. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Viskozite Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları	174
Tablo 74. Kefir Örneklerine Ait Viskozite Değerlerinin Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	174
Tablo 75. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Viskozite Değerlerinin Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	175
Tablo 76. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Kıvam Katsayıları, Akış Davranış İndeksleri ve Regresyon Katsayısı (R^2).....	177
Tablo 77. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Kıvam Katsayısı Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	178
Tablo 78. Kefir Örneklerine Ait Kıvam Katsayısı Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	178
Tablo 79. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Kıvam Katsayısı Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	179
Tablo 80. Kefir Örneklerinin Depolama Süresince Gerçekleştirilen Duyusal Analiz Sonuçları	182
Tablo 81. Kefir Örneklerinin Depolama Süresince Gerçekleştirilen Duyusal Analiz Sonuçlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları	184
Tablo 82. Kefir Örneklerine Ait Duyusal Analiz Sonuçlarının Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	188
Tablo 83. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Duyusal Analiz Sonuçlarının Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	188

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kefir danesinin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü	7
Şekil 2. Kefirin üretim yöntemleri	18
Şekil 3. Kefirin metabolizma ve sağlık üzerine probiyotik etkileri	20
Şekil 4. Çalışmada kullanılan bazı kefir daneleri	32
Şekil 5. ClearBand DNA Marker 100bp-Green fragment boyutları.....	37
Şekil 6. Kefir üretim şeması	50
Şekil 7. Kefir üretiminin fermantasyon aşaması	51
Şekil 8. Üretilen kefirlerin buzdolabında depolanması	52
Şekil 9. Bakteri izolatlarının Gram boyama ile mikroskop görüntüleri	63
Şekil 10. <i>Hafnia paralvei</i> 221 numaralı izolatın pozitif katalaz test sonucu	64
Şekil 11. Maya izolatlarının basit boyama görüntüleri.....	69
Şekil 12. Kefir danesi bakteri izolatlarının (GTG) ₅ rep-PCR profillerinin gruplandırılmasının DNA parmak izi görüntüleri (M: Marker; G: Grup).....	70
Şekil 13. Kefir danesi bakteri izolatlarının 16S-rRNA geninin ampilifikasyonunu gösteren jel görüntüsü (M: Marker; G: Grup; K: Negatif kontrol)	71
Şekil 14. <i>Lb. kefiranofaciens</i> izolatının spesifik LK1-2F ve LK1-2R primerleri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü (M: Marker, K: Pozitif Kontrol)	77
Şekil 15. <i>Lc. lactis</i> subsp <i>lactis</i> spesifik primeri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü (M: Marker, K: Kontrol).....	78
Şekil 16. <i>Lc. lactis</i> subsp <i>cremoris</i> primeri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü (M: Marker)	78
Şekil 17. Kefir danesi maya izolatlarının M13 RAPD-PCR profillerinin gruplandırılmasının DNA parmak izi görüntüleri (M: Marker; G: Grup).....	79
Şekil 18. Kefir danesi maya izolatlarının 28S-rRNA geninin ampilifikasyonunu gösteren jel görüntüsü (M: Marker; G: Grup; K: Kontrol).....	79
Şekil 19. Safraya tolerans gösteren izolat sayısı	89
Şekil 20. Simüle midneyi ortamını tolere eden izolat sayıları	97
Şekil 21. Hemolitik aktiviteye sahip <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 suşu	112
Şekil 22. Hemolitik aktiviteye sahip olmayan <i>Kluyveromyces marxianus</i> 548 suşunun kanlı Columbia agar ve YPD agar üzerindeki görüntüsü	112
Şekil 23. <i>Kluyveromyces marxianus</i> 624 suşunun (A) ve pozitif kontrol olarak kullanılan <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 suşunun (B) DNase agar'daki gelişimi	114

Şekil 24. <i>Lactococcus lactis</i> 252 suşunun (A) ve pozitif kontrol olarak kullanılan <i>Lcb. casei</i> ATCC 393 ve <i>Lcb. casei</i> strain Shirota suşlarının (B) Bile Esculine Agar üzerindeki gelişimi	116
Şekil 25. <i>Lactococcus lactis</i> 207 numaralı izolatın antibiyotik direnci	118
Şekil 26. <i>Kazachstania unispora</i> 510 numaralı suşun antifungal direnci	118
Şekil 27. <i>Lactococcus lactis</i> 246 izolatının <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644 patojeni üzerine antimikrobiyal etkisi	127
Şekil 28. 14, 75 ve 76 numaralı izolatların <i>asa1</i> virülans faktör geni PCR jel görüntüsü (M: Marker)	134
Şekil 29. 96-kuyucuklu plakanın kullanıldığı 45°C’de izolatların gelişimi	135
Şekil 30. İzolatların 96-kuyucuklu plaka kullanılarak farklı pH’lardaki gelişimi	140
Şekil 31. Gaz oluşumu gösteren (A) ve gösteremeyen izolatlar	145
Şekil 32. Pozitif (A) ve negatif (B) arjinin hidrolizi	148
Şekil 33. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca laktik basil sayım sonucu (K ₁ : Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K ₂ : Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)	157
Şekil 34. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca laktik kok sayım sonucu (K ₁ : Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K ₂ : Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)	158
Şekil 35. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca maya sayım sonucu (K ₁ : Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K ₂ : Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)	160
Şekil 36. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca pH değerleri (K ₁ : Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K ₂ : Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)	165
Şekil 37. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca % asitlik değerleri (K ₁ : Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K ₂ : Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)	168
Şekil 38. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca su tutma kapasitesi değerleri (K ₁ : Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K ₂ : Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)	170
Şekil 39. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca serum ayrılması değerleri (K ₁ : Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K ₂ : Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)	172

Şekil 40. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca 20 rpm (A) ve 50 rpm (B)'de viskozite değerleri (K ₁ : Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K ₂ : Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)	176
Şekil 41. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca kıvam katsayı değerleri (K ₁ : Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K ₂ : Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)	180
Şekil 42. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca duyuşal analiz özellikleri (A: 1. gün, B: 7. gün, C: 14. gün, D: 21. gün)	189



KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

Kısaltmalar

AAB	: Asetik Asit Bakterisi
ATCC	: American Type Culture Collection
BHI	: Brain Heart Infusion
BSH	: Safra Tuzu Hidrolaz Aktivitesi
CFS	: Hücre İçermeyen Süpernatant
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DRBC	: Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority)
EPS	: Ekzopolisakkarit
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
GYC	: Glukoz-Yeast extract-Calsium carbonat
LAB	: Laktik Asit Bakterisi
LiOAc	: Lityum asetat
MAR	: Çoklu Antibiyotik Direnç İndeksi (Multiple Antibiotic Resistance Index)
MRS	: De Man, Rogosa and Sharpe Agar
NCBI	: Nation Center for Biotechnology Information
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDA	: Potato Dextrose Agar
RAPD-PCR	: Random Amplified Polymorphic DNA
rep-PCR	: Repetitive Element Sequence-based PCR
RNA	: Ribonükleik Asit
Rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
RSM	: Rekonstitüe Yağsız Süt
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SM	: Sodyum Dodesil Sülfat
UV	: Ultraviyole
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YPD	: Yeast Extract Peptone Dextrose

Simgeler

α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
bp	: Baz Çifti
CO₂	: Karbondioksit
cP	: Centipoise
dk	: Dakika
EtBr	: Etidyum Bromür
g	: Gram
H₂O	: Su
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik Asit
IU	: Uluslararası Birim
kob	: Koloni Oluşturan Birim
log	: Logaritma
M	: Molarite
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
N	: Normalite
NaCl	: Sodyum Klorür
NaOH	: Sodyum Hidroksit
nm	: Nanometre
O₂	: Oksijen
Pa.s	: Paskal Saniye
pH	: Asitlik Bazlık Birimi
ppm	: Parts Per Million
R²	: Regresyon katsayısı
sn	: Saniye

w/v : Ağırlık/Hacim
V : Volt



GİRİŞ

Son yıllarda tüketicilerin beslenme konusunda daha da bilinçlenmeye başlaması sonucunda beslenmeye yönelik talepler güvenilir ve insan sağlığına olumlu etkiler sağlayan, hastalıklardan koruma potansiyeli olan fonksiyonel gıdalara ulaşma isteğini arttırmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve obezite gibi kronik bulaşıcı olmayan hastalıklarda gözlenen artış, uzun ve sağlıklı yaşam istemi bu artan ilginin önemli bazı nedenlerindendir. “Fonksiyonel gıda” terimi, vücutta belirli işlevlere katkıda bulunan besinleri ve bileşenleri içeren gıdaları kapsamaktadır (Egea vd., 2022). Kefir, fonksiyonel gıdalarda probiyotik içeriği açısından önemli bir yere sahip olan, içerisinde birçok faydalı bakteri ve maya bulunduran, son yıllarda gittikçe popüleritesi artan fermente bir süt ürünüdür (Köroğlu vd., 2015).

Probiyotikler, prebiyotikler ve fonksiyonel gıda ürünlerine olan talep, günümüzde hızla artmaktadır (Tomar vd., 2017). Kefir sahip olduğu doğal probiyotik mikroorganizmalar nedeni ile önemli bir probiyotik ürün olarak düşünülmektedir (Otles ve Cagindi, 2003, Farnworth, 2005). Probiyotikler, sağlığa yararlı olan canlı bakterileri içeren gıdalardır (Otles ve Cagindi, 2003). “Probiyotik” kelimesi Yunancadan “yaşam için” kelimesinden türetilmiştir (Fooks vd., 1999). 2001 yılında, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından ifade edilen ve en yaygın kabul edilen tanım, probiyotiklerin, yeterli miktarlarda tüketildiğinde konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar olduğu şeklindedir (FAO/WHO, 2001). Günümüzde yaygın olarak bilinen probiyotik bakteriler, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine aittir (Prasad vd., 1998). Ayrıca, *Saccharomyces*, *Enterococcus*, *Lactococcus* ve *Propionibacterium* cinsleri de probiyotik mikrroorganizmalar olarak dikkate alınmakta ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* da probiyotik olarak kabul edilmektedir (Vinderola ve Reinheimer, 2003).

Süt ürünlerinin her biri için, intestinal mikrobiyotanın farklı bileşenleri arasındaki dengeyi iyileştirme, bağırsak bağışıklık sistemini düzenleme veya doğal bariyeri destekleme gibi faydalı etkilere sahip olduğu iddia edilmektedir (Morelli, 2007). Bu nedenle Ghoddusi ve Hassan (2011), probiyotik ürünlerde 10^6 - 10^8 CFU/mL probiyotik konsantrasyonunun olması gerektiğini ve düzenli olarak tüketimini tavsiye etmiştir. Bakteri ve mayaların probiyotik karışımının iyi bir örneği kefirdir (Lopitz-Otsoa vd., 2006). Kefir, patojenik organizmaların üstesinden gelmek, sindirim sistemini yeniden oluşturmak ve sindirime yardımcı olmak için güçlü mikroorganizma suşlarından oluşan canlı aktif kültürleri içerir (Otles ve Cagindi, 2003).

Kefir, 21. yüzyılın yoğurdu olarak tanımlanmaktadır ve yoğurttan sonra önemli bir yere sahip olan ve herkes tarafından sevilerek tüketilen fermente süt ürünüdür (Simova vd., 2002, Yüksekdağ vd., 2004, Tomar vd., 2017). Kefirin önemi, 1920'li yıllarda Rus bilim insanlarının kefirde probiyotik bakterileri incelemeleri sırasında, yoğurtta bulunan probiyotik bakteri sayısının iki tane iken kefirde 25-30 tane olmasının fark edilmesiyle anlaşılmış ve bu kefirin zaman içinde insanlar tarafından tercih edilen bir içecek haline gelmesine katkı sağlamıştır (Tomar vd., 2017).

Kefir, sırasıyla mezofilik bakteriler ve mayalar tarafından laktik asit ve alkol fermentasyonu (laktik asit, CO₂, etanol ve diğer lezzet oluşturuvcu ürünler) ile üretilen eski bir fermente süt içeceğidir (Yüksekdağ vd., 2004, Diosma vd., 2014). Kefir, sütün liyofilize kefir starter kültürleri, geleneksel kefir daneleri ve kefir danelerinin çıkarılmasından sonra kalan ürün ile fermente edilmesiyle üretilmektedir (Prado vd., 2015). Kefir daneleri, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* gibi doğal probiyotikler ile laktik asit bakterileri (LAB), asetik asit bakterileri (AAB), mayalar ve filamentli küfler de dahil olmak üzere geniş ve değişken bir mikrobiyota içerir (Bensmira vd., 2010, Pogacic vd., 2013, Köroğlu vd., 2015). Laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve mayaların kefir üretiminde beraber kullanımı kaliteyi renk, köpürme, lezzet, koku, asitlik ve viskozite açısından olumlu etkilemektedir (Assadi vd., 2000). Asetik asit bakterileri, kefirin duyuusal özelliklerini ve diğer mikroflorasını olumsuz yönde etkilemeden, ekzopolisakkarit oluşumuna ve kefir danesi biyokütlesinin artmasına katkıda bulunmaktadır (Özdemir vd., 2015, Sindi vd., 2020). Yararlı bakteri ve mayaya ek olarak, kefir özellikle kalsiyum, magnezyum, fosfor, A vitamini, B2 ve B12, K vitamini ve D vitamini gibi birçok vitamin, amino asit, mineral, kolay sindirilebilen tam proteinleri ve enzimi içerir (Öner vd., 2010, Gaware vd., 2011).

Bu çalışmada, ülkemizin çeşitli bölgelerinden elde edilen 30 farklı kefir danesinin mikrobiyotası belirlenmeye çalışılmış ve toplam 501 suş izole edilmiştir. Bu izolatların starter (farklı sıcaklık ve pH'da gelişim, glikozdan gaz oluşumu, arjinin hidrolizi, ekzopolisakkarit üretimi) ve probiyotik (safraya direnç, simüle mide ortamına tolerans, antagonistik aktivite, oto-agregasyon ve ko-agregasyon, hidrofobisite, antibiyotik direnci, virülans faktör, hemolitik aktivite, safra tuzlarını hidrolize etme yeteneği ve DNase aktivitesi) özellikleri araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda kefir üretiminde kullanılabilecek izolatlar belirlenerek bakteriler+mayalardan oluşan kefir, sadece bakterilerden oluşan kefir üretilmiş ve bu kefirlerin 21 günlük depolama süresi boyunca bazı mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyuusal özellikleri incelenmiştir. Böylece, depolamanın örnekler üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

KURAMSAL TEMELLER

Kefir

Geleneksel ve popüler bir içecek olan kefir binlerce yıldır tüketilen Kafkasya orjinli süt ürünüdür (Motaghi vd., 1997, Otles ve Cagindi, 2003). Kefirin anavatanının Kafkas Dağları olduğu ve Kafkasya'da Elbruz Dağları eteklerinde yapılıp, yapımının gizli olduğu ancak Rusya'da yayınlanan "Kefyr" kitabının 1984 yılında Moritz Schulz tarafından Almanca'ya çevrilmesi ile Avrupa'da tanındığı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Yüksekdağ ve Beyatlı, 2003). Kefir, kefir danelerinin içerisinde bulunan bakteri ve mayaların etkisiyle üretilen fermente bir süt içeceği olup, kendine özgü bir tada ve benzersiz özelliklere sahiptir ve sağlığı geliştirici özelliklerinden dolayı insan beslenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Farnworth, 2005, Nejati vd., 2020).

Türkçe' de coşturan, hoş tat, keyif veren, güzel hissettiren, mest eden anlamlarına gelen 'keyf' sözcüğünden geldiği düşünülen kefir; kefer, kipi, kepi, knapan, kephir ve kiaphur gibi isimlerle de bilinmektedir (Dinç, 2008, Sabir vd., 2010, Ahmed vd., 2013a, Nielsen vd., 2014). Kefirin kökenine dair efsane vardır ve bu efsaneye göre orijinal kefir daneleri, Hz. Muhammed (SAV) tarafından bölgedeki Ortodoks Hristiyanlara başkalarıyla asla paylaşmamaları yönünde kesin bir talimatla verilmiştir (Nielsen vd., 2014). Bu nedenle kefir daneleri "Peygamber darısı" olarak da adlandırılmaktadır (Sarkar, 2008, Pogacic vd., 2013). Kefir, Rusya, Kuzey Afrika, Doğu ve Kuzey Avrupa, Orta Doğu, Japonya, Kuzey Amerika ve Güneybatı Asya da dahil olmak üzere dünyanın çeşitli yerlerinde beslenme ve tedavi edici özellikleri nedeniyle önem kazanmış, diyetetik bir içecek olarak tüketilmesi tavsiye edilmiştir (Sarkar, 2008). Antioksidan, antiinflamatuvar, antihipokolesterolemik, antihipertansif, antimutajenik, antikanserojenik ve nöroprotektif özellikler gibi çok çeşitli sağlık yararları nedeniyle de dünya çapında büyük bir popülerlik kazanmıştır (Culpepper, 2022, Yegin vd., 2022).

Kefir; inek, keçi, manda, kısırak, deve ya da koyun sütünün kefir daneleriyle inkübasyonu sonucu hazırlanmış, asidik, egzotik ekşi ve hafif alkollü bir tada sahip ferahlatıcı, fermente bir süt içeceğidir (Riviére vd., 1967, Guzel-Seydim vd., 2000, Farnworth, 2005, Sabir vd., 2010, Karatepe ve Yalçın, 2014, Azizkhani vd., 2021, Biçer vd., 2021). Kefirin aroması ve bileşimi sütün türüne, teknolojik prosese ve kefir danesinin kaynağına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Ertekin ve Guzel-Seydim, 2010). Güzel-Seydim vd. (2000), kaliteli bir kefirin köpüklü, dökülebilir bir kıvama sahip olduğunu belirtmektedirler. Laktik asit bakterileri ve

mayalar tarafından sütün fermente edilmesiyle oluşan kefir; CO₂, özellikle bakteriyosinler, az miktarda etil alkol (%0,5-2 düzeyinde), laktik asit (%1 kadar), süksinik, formik ve propiyonikasitler, doğal biyoaktif bileşikler, asetik asit, antibiyotikler ve aromatik maddelerden (asetaldehit ve aseton gibi) oluşur (Guzel-Seydim vd., 2000, Otles ve Cagindi, 2003, Güven vd., 2003, Karatepe ve Yalçın, 2014, Azizkhani vd., 2021). Kefirin muhafazası esnasında CO₂, alkol ve asitlik miktarı artış gösterdiği için tatlı, orta sert, sert ve çok sert kefir olarak gruplandırılmaktadır (Karatepe ve Yalçın, 2014).

Geleneksel kefir, Kuzey Kafkasya bölgesindeki çobanlardan gelen fermente bir süt içeceğidir ve bir kapının yanında asılı deri çantalarda yapılırdı. Süt ve kefir danelerinin iyice karışmasını sağlamak için kapıdan geçen herkes tarafından deri çantaya çarpılırdı (Gaware vd., 2011). Kefir üretiminde hindistancevizi, ceviz, yer fıstığı, pirinç ve soya sütü de kullanılabilir, ancak genellikle inek sütü kullanılmaktadır (Otles ve Cagindi, 2003, Nielsen vd., 2014).

Türk Gıda Kodeksi 30.11.2022 tarih ve 32029 sayı, 2022/44 No’lu Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği’ne göre kefir “Fermantasyonda, kefir danesine özgü karakteristik mikroorganizmalar olan *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefirgranum*’dan en az ikisini, laktozu fermente eden mayalardan *Kluyveromyces marxianus* ve etmeyen mayalardan *Saccharomyces* spp.’yi zorunlu olarak içeren bunun yanında *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Acetobacter* ve benzeri bakteri cinslerine ait türler ile farklı maya türlerini de bulundurabilen kefir danelerinin veya starter kültürlerin kullanıldığı fermente süt ürünü” olarak tanımlanır (Anonim, 2022b). Türk Gıda Kodeksi, 2022/44 No’lu Fermente Süt Ürünleri Tebliği’ne göre kefirin ürün özellikleri Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği’ne Göre Kefirin Ürün Özellikleri (Anonim, 2022b)

Bileşen	Miktar
Süt Proteini (Kütlece %)	En az 2,7
Süt Yağı (Kütlece %)	En fazla 10
Titrasyon Asitliği (Laktik asit olarak kütlece %)	En az 0,6
Etanol (%hacim/ağırlık)	-
Toplam Spesifik Mikroorganizma (kob/g)	En az 10 ⁷
Etikette Belirtilen Toplam İlave Mikroorganizma (kob/g)	En az 10 ⁶
Maya (kob/g)	En az 10 ³

Codex Alimentarius Anonim (2022a)'na göre kefir daneleri, *Lactobacillus kefir*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* ve *Acetobacter* cinsi türlerinden hazırlanan starter kültürdür. Kefir daneleri hem laktozu fermente eden mayaları (*Kluyveromyces marxianus*) hem de laktozu fermente etmeyen mayaları (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces exiguus* ve *Saccharomyces unisporus*) içermektedir. Codex Alimentarius Anonim (2022a)'na göre kefirin ürün özellikleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Codex Alimentarius Standard'ına Göre Kefirin Ürün Özellikleri (Anonim, 2022a)

Bileşen	Miktar
Süt Proteini (% m/m)	En az 2,7
Süt Yağı (% m/m)	En fazla 10
Titre Edilebilir Asitlik, % Laktik asit olarak (% m/m)	En az 0,6
Etanol (% vol./w)	-
Toplam Spesifik Mikroorganizma (kob/g, toplam)	En az 10 ⁷
Etikette Belirtilen Toplam İlave Mikroorganizma (kob/g)	En az 10 ⁶
Maya (kob/g)	En az 10 ⁴

Kefir Danesi

Kefir daneleri 5 ile 20 mm çapları arasında değişen, minyatür karnabahar çiçeklerini, patlamış mısırı ve pişmiş pirinci andıran jelatinimsi, sarımsı beyazımsı, düzensiz ve yapışık fakat sert granüllerdir (Cevikbas vd., 1994, Garrote vd., 2001, Sabir vd., 2010, Miguel vd., 2010, Ahmed vd., 2013a). Bu granüller, protein ve kefiran denilen suda çözünebilen bir polisakkarit ile aglütine edilmiş laktik asit bakterileri ve mayalardan oluşur (Cevikbas vd., 1994, Garrote vd., 2001, Magalhães vd., 2011b). Kefiran üretimine yol açan metabolik yollar tam olarak anlaşılamamıştır; ancak kefiranın *Lactobacillus kefiranofaciens* (*Lb. kefiranofaciens*) tarafından üretilen, esas olarak glikoz ve galaktozdan oluşan dallı hekza ve heptasakkaritlerin tekrar eden birimlerinden oluştuğu bilinmektedir (Guzel-Seydim vd., 2005, Lopitz-Otsoa vd., 2006). Kefiranın fizikokimyasal özellikleri; kıvam arttırıcı, stabilizatör ve emülgatör, yağ ikamesi, film oluşturucu veya jelleştirici olarak kullanılabilmesine olanak sağlar (Hamet vd., 2013).

Kefir danelerinin mikrobiyal içeriği, kefir danelerinin kaynağı ve menşei ülkesi, dane-süt oranı, mikroorganizma sayısı ve türlerin birbirlerine oranı, inkübasyon süresi ve sıcaklığı, kefir danelerinin ayrılması sırasındaki sanitasyon, danelerin yıkanması ve soğukta muhafaza edilmesi ürün kalitesini ve kefir danelerinin mikroflorasını büyük ölçüde etkilemektedir

(Guzel-Seydim vd., 2005). Ayrıca kefirin lezzet ve içeriği, üretimde kullanılan sütün kaynağına ve sütün bileşimine de bağlıdır (Zourari ve Anifantakis, 1988). Hamet vd. (2013), danelerin mikrobiyal çeşitliliğinin eşit dağılmadığı, iç kısımların dış kısımlara kıyasla daha fazla çeşitlilik gösterdiği ve fermente kefir sütünden farklı olduğunu tespit etmişlerdir. Buna göre daneler, maya ve LAB'ler dışında AAB ve küfleri içeren değişken ve karmaşık bir mikrobiyal bileşime sahiptir ve mikrofloranın %65-80 oranının laktobasiller oluşturmaktadır (Witthuhn vd., 2005a).

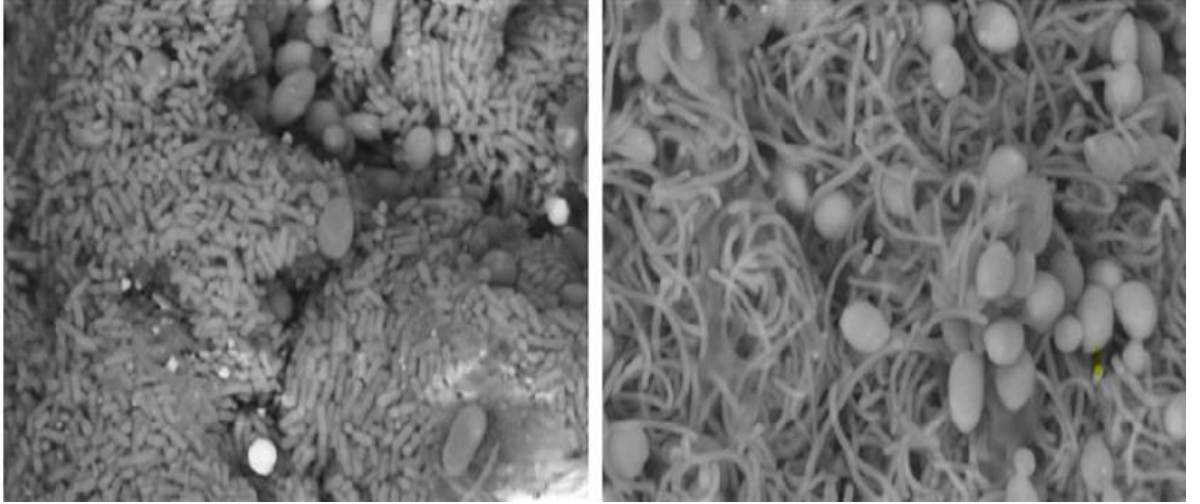
Kefir danelerinin yüzeyindeki baskın mikrofloranın laktobasillerden, iç kısmının ise ağırlıklı olarak mayalardan oluştuğu gözlemlenmiştir. Mayalar, kefirde karbondioksit üretimi, kendine özgü tat ve aroma oluşumu ile mikroorganizmalar arasında simbiyotik ilişkinin kurulmasında belirgin bir rol oynamaktadır. Kefirdeki mikroorganizmalar farklı katmanlara dağılmıştır. Kefir danesinin alt kısmında laktozu fermente edemeyen mayalar bulunurken orta katmanda laktozu fermente edebilen mayalar bulunur. Danenin yüzeyinde mezofilik laktik asit bakterileri, streptokoklar ve termofilik laktobasillerin yanı sıra AAB'lerde bulunmaktadır (Tomar vd., 2017).

%85-90 oranında su, kuru maddesinde ise %57 karbonhidrat, %45,7'si mukopolisakkarit, %34,3'ü toplam protein (%1,6'sı çözünür, %27'si çözünmez ve %5,6'sı serbest amino asit), %4,4 yağ ve %12,1 kül, Ca, Mg ve P mineralleri, B ve K vitaminleri ve triptofan bulunan kefir danesi, kefir üretimi sırasında doğal bir starter kültür rolü üstlenir ve fermentasyon işleminden sonra sütün süzülmesiyle geri kazanılır (Rattray ve O'Connell, 2011, Kesenkaş vd., 2013, Rosa vd., 2017). Süt içine tekrarlanan inokülasyon ile yaklaşık 20 saatte kefir daneleri kütlelerini yaklaşık %25 oranında artırır ve karakteristik bir kokuya sahip olur (Farnworth, 2005, Pogacic vd., 2013). Eski ve kurutulmuş kefir danelerinin çoğalma yeteneği çok az olduğundan veya hiç olmadığından, kefir danelerinin canlılıklarını korumak için bu şekilde çoğaltılması gerekir (Farnworth, 2005).

İdeal bir kefir danesi, elastik bir yapıya sahip olmalı ve yapışkanlık veya yumuşaklık göstermemelidir. Bu dane, temizlik ve dikkatli bakım koşullarına uyulduğunda uzun bir ömre sahiptir. Kefir daneleri, kaynatılmış ve soğutulmuş suyla yıkandıktan sonra ıslak bir durumda 8-10 gün boyunca aktivitelerini sürdürebilir. Uzun süreli saklama düşünüldüğünde, daneler oda sıcaklığında kurutularak soğuk ve kuru bir ortamda 12-18 ay boyunca muhafaza edilebilir. (Çıray, 2017). Kefir daneleri geleneksel olarak evden eve ve nesilden nesile aktarılabilmektedir (Liu vd., 2022).

Wang vd. (2012), kefir danesi oluşumunu açıklamak için bir hipotez önermişlerdir. Bu hipoteze göre, kefir laktik asit ve maya suşlarının hücre yüzeyi özellikleri, oto-agregasyon yeteneği, ko-agregasyon yetenekleri, biyofilm oluşumu ve SEM (taramalı elektron mikroskobu)

gözlemi bir bütün olarak ele alınmıştır. Başlangıçta, *Lb. kefiranofaciens* ve *Kazachstania turicensis* (*Kaza. turicensis*) küçük granüller oluşturmak üzere kendi kendine ve birlikte toplanmaya başlar. Biyofilm üreticileri *Lentilactobacillus kefir* (*Len. kefir*), *Kluyveromyces marxianus* (*Kluy. marxianus*) ve *Pichia fermentans* (*Pich. fermentans*) daha sonra hücre yüzey özellikleri ve güçlü ko-agregasyon yetenekleri nedeniyle bu küçük granüllerin yüzeyine yapışarak ince biyofilmler oluştururlar. Biyofilm oluşumundan sonra kefir mayaları ve LAB, granül suşları ile birlikte agregasyona devam eder ve granül biyofilm ile birleşerek üç boyutlu bir mikro koloni haline gelir. Kefir mayası ve LAB'nin büyümesine bağlı olarak hücre yoğunluğu arttıkça, sıvı fazda bulunan hücreler ve süt bileşenleri granül yüzeyinde birikerek kefir daneleri oluşur (Wang vd., 2012, Nejati vd., 2020). Alt kültürden sonra, daha fazla suş danelere yapışır ve birikerek dane büyümesine neden olur. Kefir danelerinin ve karışık suşlu biyofilmin SEM gözlemi, yukarıdaki hipotezde açıklanan sürece paraleldir. Kısa zincirli laktobasiller, *Len. kefir* yüzeyi kaplarken, uzun zincirli laktobasiller *Lb. kefiranofaciens* kefir danelerinin merkezinde toplanmış olarak bulunur (Şekil 1) (Wang vd., 2012).



Şekil 1. Kefir danesinin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü (Wang vd., 2012)

Kefirin Mikrobiyotası

Kefir daneleri ve kefirdeki mikroorganizmaların izolasyonu ve tanımlanması, uygun büyüme ortamının seçimine bağlıdır ve son zamanlarda sofistike tanımlama yöntemleri kullanılmaktadır. Kefir, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Acetobacter* ve *Streptococcus* bakterileri ile *Kluyveromyces*, *Candida*, *Pichia*, *Torula* ve *Saccharomyces* mayalarının karmaşık bir mikrobiyal simbiyotik karışımı ile fermente edilmesiyle üretilir (Rodrigues vd., 2005, Miguel vd., 2010). Mikrobiyal türlerin mevcudiyetine göre, kefir danesi yaklaşık 10^9 laktokok, 10^7 - 10^8 arasında *Leuconostoc* türü, 10^7 - 10^8 termofil laktobasil, 10^4 - 10^5 maya ve 10^4 - 10^5 asetik asit bakteri ve filamentli küfler arasından *Geotrichum candidum* (*Geot.*

candidum) içerir (Pogacic vd., 2013). Tablo 3’de kefir danelerinde bulunan *Lactobacillus* türleri, Tablo 4’de kefir danelerinde bulunan diğer bakteriler bulunurken, Tablo 5’de kefir danelerinde bulunan maya çeşitliliği gösterilmiştir.



Tablo 3. Kefir Danesinde Bulunan *Lactobacillus* Türleri

<i>Lactobacillus</i> türleri	Kaynaklar
<i>Lentilactobacillus kefir</i> (<i>Lactobacillus kefir</i>)	Angulo vd. (1993), Kwak vd. (1996), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Leite vd. (2012), Kesenkaş vd. (2013), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Garofalo vd. (2015), Walsh vd. (2016), Gao ve Li (2016), Dertli ve Çon (2017), Plessas vd. (2017), Tomar vd. (2017), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019), Nejati vd. (2020), Kalamaki ve Angelidis (2020), Ilıkkın ve Bağdat (2021), Yılmaz vd. (2022), Wang vd. (2022), Walsh vd. (2023)
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefiranofaciens</i>	Kwak vd. (1996), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Leite vd. (2012), Kök Taş vd. (2012), Kesenkaş vd. (2013), Pogacic vd. (2013), Nalbantoglu vd. (2014), Prado vd. (2015), Garofalo vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Walsh vd. (2016), Gao ve Li (2016), Dertli ve Çon (2017), Tomar vd. (2017), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019), Nejati vd. (2020), Kalamaki ve Angelidis (2020), Yılmaz vd. (2022), Walsh vd. (2023)
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefirgranum</i>	Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sarkar (2008), Guzel-Seydim vd. (2011), Leite vd. (2012), Kök Taş vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lentilactobacillus parakefiri</i> (<i>Lactobacillus parakefiri</i>)	Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sarkar (2008), Guzel-Seydim vd. (2011), Leite vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019), Nejati vd. (2020), Kalamaki ve Angelidis (2020), Yılmaz vd. (2022), Walsh vd. (2023)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Angulo vd. (1993), Kwak vd. (1996), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sabir vd. (2010), Guzel-Seydim vd. (2011), Kök Taş vd. (2012), Leite vd. (2012), Kesenkaş vd. (2013), Prado vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Gao ve Li (2016), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactobacillus amylolyticus</i> <i>Lactobacillus amylovorus</i>	Ilıkkın ve Bağdat (2021), Yılmaz vd. (2022) Pogacic vd. (2013), Nalbantoglu vd. (2014), Prado vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Gao ve Li (2016), Nejati vd. (2020), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactobacillus apis</i> <i>Levilactobacillus brevis</i> (<i>Lactobacillus brevis</i>)	Dertli ve Çon (2017), Yılmaz vd. (2022) Angulo vd. (1993), Kwak vd. (1996), Simova vd. (2002), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sabir vd. (2010), Guzel-Seydim vd. (2011), Leite vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Kesenkaş vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019), Alraddadi vd. (2023)
<i>Lactobacillus buchneri</i>	Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Garofalo vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Gao ve Li (2016), Nejati vd. (2020), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactobacillus caucasicus</i> <i>Lactocaseibacillus casei</i> (<i>Lactobacillus casei</i>)	Kwak vd. (1996) Kwak vd. (1996), Simova vd. (2002), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sarkar (2008), Sabir vd. (2010), Guzel-Seydim vd. (2011), Magalhães vd. (2011a), Pogacic vd. (2013), Kesenkaş vd. (2013), Gao ve Li (2016), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactobacillus cellobiosus</i> <i>Lactobacillus citreum</i> <i>Lactobacillus crispatus</i>	Kwak vd. (1996), Sabir vd. (2010) Walsh vd. (2023) Garbers vd. (2004), Guzel-Seydim vd. (2011), Kök Taş vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Rosa vd. (2017), Nejati vd. (2020), Kalamaki ve Angelidis (2020), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactobacillus curvatus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	Witthuhn vd. (2004), Bourrie vd. (2016) Kwak vd. (1996), Simova vd. (2002), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sabir vd. (2010), Guzel-Seydim vd. (2011), Leite vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Kesenkaş vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019)

Tablo 3. Devamı

Lactobacillus türleri	Kaynaklar
<i>Lactobacillus diolivorans</i>	Bourrie vd. (2016), Purutoğlu vd. (2020), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	Angulo vd. (1993), Garbers vd. (2004), Farnworth (2005), Witthuhn vd. (2005a), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sarkar (2008), Guzel-Seydim vd. (2011), Leite vd. (2012), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019)
<i>Lactobacillus fructivorans</i>	Farnworth (2005), Sarkar (2008), Guzel-Seydim vd. (2011), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Lactobacillus gallinarum</i>	Garbers vd. (2004), Nalbantoglu vd. (2014), Bourrie vd. (2016), Gao ve Li (2016), Rosa vd. (2017), Walsh vd. (2023)
<i>Lactobacillus garvieae</i>	Nalbantoglu vd. (2014), Bourrie vd. (2016)
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Angulo vd. (1993), Sarkar (2008), Guzel-Seydim vd. (2011), Nalbantoglu vd. (2014), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Lactobacillus gigeriorum</i>	Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Kwak vd. (1996), Simova vd. (2002), Garbers vd. (2004), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sabir vd. (2010), Guzel-Seydim vd. (2011), Leite vd. (2012), Kök Taş vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Kesenkaş vd. (2013), Prado vd. (2015), Walsh vd. (2016), Gao ve Li (2016), Tomar vd. (2017), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019), Nejati vd. (2020), Ilıkkın ve Bağdat (2021), Yılmaz vd. (2022), Walsh vd. (2023)
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	Farnworth (2005), Sarkar (2008), Guzel-Seydim vd. (2011), Gao ve Li (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Lactobacillus hordei</i>	Gao ve Li (2016)
<i>Lactobacillus intestinalis</i>	Bourrie vd. (2016), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactobacillus jensenii</i>	Gao ve Li (2016)
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	Nalbantoglu vd. (2014), Slattery vd. (2019)
<i>Lactobacillus otakiensis</i>	Garofalo vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Purutoğlu vd. (2020), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	Magalhães vd. (2011a), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Plessas vd. (2017), Nejati vd. (2020), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> (<i>Lactobacillus paracasei</i>)	Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sarkar (2008), Guzel-Seydim vd. (2011), Magalhães vd. (2011a), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019)
<i>Lactobacillus pentosus</i>	Nalbantoglu vd. (2014) Bourrie vd. (2016)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> (<i>Lactobacillus plantarum</i>)	Kwak vd. (1996), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sarkar (2008), Guzel-Seydim vd. (2011), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Plessas vd. (2017), Slattery vd. (2019), Walsh vd. (2023)
<i>Limosilactobacillus reuteri</i> (<i>Lactobacillus reuteri</i>)	Kök Taş vd. (2012), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019), Yılmaz vd. (2022), Walsh vd. (2023)
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> (<i>Lactobacillus rhamnosus</i>)	Angulo vd. (1993), Farnworth (2005), Sarkar (2008), Guzel-Seydim vd. (2011), Gao ve Li (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017), Slattery vd. (2019), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactobacillus satsumensis</i>	Miguel vd. (2010), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Gao ve Li (2016)
<i>Lactobacillus sunkii</i>	Garofalo vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Slattery vd. (2019), Nejati vd. (2020), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactobacillus ultunensis</i>	Dertli ve Çon (2017), Yılmaz vd. (2022)
<i>Lactobacillus uvarum</i>	Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015)
<i>Lactobacillus viridescens</i>	Angulo vd. (1993), Farnworth (2005), Sarkar (2008), Guzel-Seydim vd. (2011), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)

Tablo 4. Kefir Danesinde Bulunan Diğer Bakteri Türleri

Lactococcus türleri	
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	Kwak vd. (1996), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sarkar (2008), Sabir vd. (2010), Guzel-Seydim vd. (2011), Leite vd. (2012), Kesenkaş vd. (2013), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017), Nejati vd. (2020), Yilmaz vd. (2022)
<i>Lactococcus chungangensis</i>	Walsh vd. (2023)
<i>Lactococcus garvieae</i>	Walsh vd. (2023)
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Angulo vd. (1993), Kwak vd. (1996), Simova vd. (2002), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Leite vd. (2012), Kesenkaş vd. (2013), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Tomar vd. (2017), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Ilıkkın ve Bağdat (2021), Yilmaz vd. (2022)
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	Guzel-Seydim vd. (2011), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017), Yilmaz vd. (2022)
<i>Lactococcus petauri</i>	Walsh vd. (2023)
Leuconostoc türleri	
<i>Leuconostoc citreum</i>	Yilmaz vd. (2022)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	Farnworth (2005), Witthuhn vd. (2005a), Sarkar (2008), Sabir vd. (2010), Kesenkaş vd. (2013), Bourrie vd. (2016)
<i>Leuconostoc gelidum</i>	Yilmaz vd. (2022)
<i>Leuconostoc lactis</i>	Gao vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sarkar (2008), Sabir vd. (2010), Guzel-Seydim vd. (2011), Leite vd. (2012), Kesenkaş vd. (2013), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Walsh vd. (2016), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Yilmaz vd. (2022), Walsh vd. (2023)
<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	Prado vd. (2015)
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	Kesmen ve Kacmaz (2011), Prado vd. (2015), Garofalo vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Yilmaz vd. (2022), Walsh vd. (2023)
Streptococcus türleri	
<i>Streptococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	Guzel-Seydim vd. (2011), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Streptococcus diacetylactis</i>	Yilmaz vd. (2022)
<i>Streptococcus durans</i>	Kwak vd. (1996), Guzel-Seydim vd. (2011), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Streptococcus faecalis</i>	Guzel-Seydim vd. (2011), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Angulo vd. (1993), Kwak vd. (1996), Simova vd. (2002), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sabir vd. (2010), Guzel-Seydim vd. (2011), Leite vd. (2012), Kesenkaş vd. (2013), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Yilmaz vd. (2022)
Acetobacter türleri	
<i>Acetobacter aceti</i>	Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sarkar (2008), Guzel-Seydim vd. (2011), Kesenkaş vd. (2013), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Acetobacter cibinongensis</i>	Walsh vd. (2023)
<i>Acetobacter fabarum</i>	Gao vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Purutoğlu vd. (2020), Walsh vd. (2023)
<i>Acetobacter lovaniensis</i>	Magalhães vd. (2011a), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Acetobacter okinawensis</i>	Purutoğlu vd. (2020)
<i>Acetobacter orientalis</i>	Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Plessas vd. (2017), Purutoğlu vd. (2020), Ilıkkın ve Bağdat (2021), Walsh vd. (2023)
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	Farnworth (2005), Sarkar (2008), Guzel-Seydim vd. (2011), Walsh vd. (2016), Gao ve Li (2016), Tomar vd. (2017), Nejati vd. (2020), Walsh vd. (2023)
<i>Acetobacter rancens</i>	Prado vd. (2015)
<i>Acetobacter syzygii</i>	Miguel vd. (2010), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Rosa vd. (2017), Garofalo vd. (2020), Guangsen vd. (2021)
<i>Acetobacter tropicalis</i>	Walsh vd. (2023)

Tablo 4. Devamı

<i>Bifidobacterium</i> türleri	
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Kök Taş vd. (2012), Prado vd. (2015), Rosa vd. (2017)
<i>Bifidobacterium breve</i>	Dobson vd. (2011), Bourrie vd. (2016)
<i>Bifidobacterium choerinum</i> ,	Dobson vd. (2011), Bourrie vd. (2016)
<i>Bifidobacterium longum</i>	Dobson vd. (2011), Bourrie vd. (2016), Ilıkkın ve Bağdat (2021)
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i>	Dobson vd. (2011), Bourrie vd. (2016)
<i>Acinetobacter</i> türleri	
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Dertli ve Çon (2017)
<i>Acinetobacter guillouiae</i>	Walsh vd. (2023)
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	Kalamaki ve Angelidis (2020), Walsh vd. (2023)
<i>Acinetobacter rhizosphaerae</i>	Dertli ve Çon (2017)
<i>Enterococcus</i> türleri	
<i>Enterococcus durans</i>	Lopitz-Otsoa vd. (2006), Sarkar (2008), Prado vd. (2015), Rosa vd. (2017), Purutoğlu vd. (2020), Walsh vd. (2023)
<i>Enterococcus faecalis</i>	Prado vd. (2015), Wang vd. (2022), Walsh vd. (2023)
<i>Enterococcus faecium</i>	Sarkar (2008), Kesenkaş vd. (2013), Pogacic vd. (2013)
<i>Enterococcus lactis</i>	Dertli ve Çon (2017), Walsh vd. (2023)
<i>Enterobacter</i> türleri	
<i>Enterobacter amnigenus</i>	Dertli ve Çon (2017)
<i>Enterobacter hormaechei</i>	Dertli ve Çon (2017)
<i>Enterobacter soil</i>	Dertli ve Çon (2017)
<i>Pseudomonas</i> türleri	
<i>Pseudomonas azotoformans</i>	Dertli ve Çon (2017)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Dertli ve Çon (2017)
<i>Pseudomonas otitidis</i>	Dertli ve Çon (2017)
<i>Pseudomonas putida</i>	Pogacic vd. (2013)
<i>Pediococcus</i> türleri	
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Sabir vd. (2010), Rosa vd. (2017)
<i>Pediococcus dextrinicus</i>	Sabir vd. (2010), Rosa vd. (2017)
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Sabir vd. (2010), Bourrie vd. (2016), Rosa vd. (2017), Yılmaz vd. (2022)
<i>Gluconobacter</i> türleri	
<i>Gluconobacter japonicus</i>	Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015)
<i>Gluconobacter frateurii</i>	Prado vd. (2015), Plessas vd. (2017)
Diğerleri	
<i>Bacillus subtilis</i>	Farnworth (2005), Sarkar (2008), Gao vd. (2012), Prado vd. (2015), Yalçın ve Işık (2017)
<i>Citrobacter freundii</i>	Çırpıcı ve Çetin (2023)
<i>Escherichia coli</i>	Farnworth (2005), Sarkar (2008), Prado vd. (2015), Rosa vd. (2017), Ilıkkın ve Bağdat (2021), Çırpıcı ve Çetin (2023)
<i>Hafnia paralvei</i>	Çırpıcı ve Çetin (2023)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Çırpıcı ve Çetin (2023)
<i>Pantoea ananatis</i>	Ilıkkın ve Bağdat (2021)
<i>Propionibacterium acnes</i>	Dertli ve Çon (2017)
<i>Serratia liquefaciens</i>	Çırpıcı ve Çetin (2023)

Tablo 5. Kefir Danesinde Bulunan Maya Türleri

Saccharomyces türleri	Kaynaklar
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Angulo vd. (1993), Simova vd. (2002), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Gao vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Diosma vd. (2014), Garofalo vd. (2015), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Plessas vd. (2017), Rahmani vd. (2022), Walsh vd. (2023), Saleem vd. (2023)
<i>Saccharomyces cariovanus</i>	Garofalo vd. (2015), Bourrie vd. (2016)
<i>Saccharomyces dairensis</i>	Farnworth (2005), Yalçın ve Işık (2017)
<i>Saccharomyces delbruecki</i>	Farnworth (2005), Guzel-Seydim vd. (2011), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Saccharomyces euboyanus</i>	Walsh vd. (2023)
<i>Saccharomyces exiguus</i>	Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Gao ve Li (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Saccharomyces fragilis</i>	Rosa vd. (2017)
<i>Saccharomyces humaticus</i>	Guzel-Seydim vd. (2011), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Saccharomyces lactis</i>	Rosa vd. (2017)
<i>Saccharomyces lipolytic</i>	Rosa vd. (2017)
<i>Saccharomyces martiniae</i>	Pogacic vd. (2013)
<i>Saccharomyces pastorianus</i>	Lopitz-Otsoa vd. (2006), Goktas vd. (2021b)
<i>Saccharomyces turicensis</i>	Simova vd. (2002), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Garofalo vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Saccharomyces unisporus</i>	Angulo vd. (1993), Farnworth (2005), Guzel-Seydim vd. (2011), Pogacic vd. (2013), Diosma vd. (2014), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Tomar vd. (2017), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Saleem vd. (2023)
Kluyveromyces türleri	
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Simova vd. (2002), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Kök Taş vd. (2012), Gao vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Kesenkaş vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Nejati vd. (2020), Hsu ve Chou (2021), Rahmani vd. (2022), Walsh vd. (2023)
<i>Kluyveromyces dobzhanskii</i>	Kök Taş vd. (2012), Gao ve Li (2016)
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Angulo vd. (1993), Simova vd. (2002), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Magalhães vd. (2011a), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017), Yalçın ve Işık (2017)
<i>Kluyveromyces lodderae</i>	Lopitz-Otsoa vd. (2006)
Kazachstania türleri	
<i>Kazachstania aerobia</i>	Magalhães vd. (2011a), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Garofalo vd. (2015), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017), Saleem vd. (2023)
<i>Kazachstania exigua</i>	Gao vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Plessas vd. (2017), Nejati vd. (2020)
<i>Kazachstania servazzii</i>	Garofalo vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Gao ve Li (2016), Hsu ve Chou (2021)
<i>Kazachstania solicola</i>	Garofalo vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Gao ve Li (2016), Saleem vd. (2023)
<i>Kazachstania turicensis</i>	Hsu ve Chou (2021)
<i>Kazachstania unispora</i>	Simova vd. (2002), Gao vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Garofalo vd. (2015), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Purutoğlu vd. (2020)
Candida türleri	
<i>Candida albicans</i>	Guzel-Seydim vd. (2011), Gao ve Li (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Candida famata</i>	Lopitz-Otsoa vd. (2006)
<i>Candida firmetaria</i>	Lopitz-Otsoa vd. (2006)
<i>Candida albicans</i>	Guzel-Seydim vd. (2011), Gao ve Li (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Candida famata</i>	Lopitz-Otsoa vd. (2006)
<i>Candida firmetaria</i>	Lopitz-Otsoa vd. (2006)

Tablo 5. Devamı

<i>Candida friedrichii</i>	Angulo vd. (1993), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017), Yalçın ve Işık (2017)
<i>Candida holmii</i>	Angulo vd. (1993), Farnworth (2005), Guzel-Seydim vd. (2011), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Rosa vd. (2017), Tomar vd. (2017)
<i>Candida humilis</i>	Lopitz-Otsoa vd. (2006)
<i>Candida inconspicua</i>	Simova vd. (2002), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Rosa vd. (2017)
<i>Candida kefir</i>	Angulo vd. (1993), Simova vd. (2002), Farnworth (2005), Witthuhn vd. (2005a), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Kesenkaş vd. (2013), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Rosa vd. (2017), Tomar vd. (2017)
<i>Candida krusei</i>	Witthuhn vd. (2005a), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Prado vd. (2015), Rosa vd. (2017)
<i>Candida lambica</i>	Farnworth (2005), Witthuhn vd. (2005a), Prado vd. (2015), Gao ve Li (2016), Rosa vd. (2017), Plessas vd. (2017), Yalçın ve Işık (2017)
<i>Candida lipolytica</i>	Lopitz-Otsoa vd. (2006), Bourrie vd. (2016), Rosa vd. (2017)
<i>Candida maris</i>	Simova vd. (2002), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Prado vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Rosa vd. (2017), Yalçın ve Işık (2017)
<i>Candida pseudotropicalis</i>	Farnworth (2005), Rosa vd. (2017), Yalçın ve Işık (2017)
<i>Candida sake</i>	Bourrie vd. (2016)
<i>Candida tannotelerans</i>	Farnworth (2005), Rosa vd. (2017), Yalçın ve Işık (2017)
<i>Candida tenuis</i>	Farnworth (2005), Rosa vd. (2017), Yalçın ve Işık (2017)
<i>Candida valida</i>	Farnworth (2005), Rosa vd. (2017), Yalçın ve Işık (2017)
<i>Pichia türleri</i>	
<i>Pichia fermentas</i>	Angulo vd. (1993), Simova vd. (2002), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Pogacic vd. (2013), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017), Rahmani vd. (2022), Saleem vd. (2023)
<i>Pichia guilliermondii</i>	Gao vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015)
<i>Pichia kudriavzevii</i>	Gao vd. (2012), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Purutoğlu vd. (2020), Hsu ve Chou (2021), Rahmani vd. (2022)
<i>Debaryomyces türleri</i>	
<i>Debaryomyces anomala</i>	Simova vd. (2002)
<i>Debaryomyces occidentalis</i>	Simova vd. (2002), Lopitz-Otsoa vd. (2006)
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Simova vd. (2002), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Rosa vd. (2017)
<i>Issatchenkia türleri</i>	
<i>Issatchenkia occidentalis</i>	Farnworth (2005), Diosma vd. (2014), Rosa vd. (2017)
<i>Issatchenkia orientalis</i>	Simova vd. (2002), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Yalçın ve Işık (2017)
<i>Diğerleri</i>	
<i>Brettanomyces anomalus</i>	Farnworth (2005), Rosa vd. (2017), Yalçın ve Işık (2017)
<i>Cryptococcus humicolus</i>	Witthuhn vd. (2005a), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Bourrie vd. (2016), Rosa vd. (2017)
<i>Dekkera anomala</i>	Prado vd. (2015), Garofalo vd. (2015), Bourrie vd. (2016), Plessas vd. (2017)
<i>Geotrichum candidum</i>	Witthuhn vd. (2005a), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Pogacic vd. (2013), Bourrie vd. (2016)
<i>Lachancea meyersii</i>	Magalhães vd. (2011a), Pogacic vd. (2013), Prado vd. (2015), Plessas vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Naumovozyma dairenensis</i>	Walsh vd. (2023)
<i>Rhodospiridium kratochvilovae</i>	Plessas vd. (2017)
<i>Torulopsis holmii</i>	Guzel-Seydim vd. (2011), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	Angulo vd. (1993), Simova vd. (2002), Farnworth (2005), Lopitz-Otsoa vd. (2006), Guzel-Seydim vd. (2011), Kesenkaş vd. (2013), Gao ve Li (2016), Bourrie vd. (2016), Tomar vd. (2017), Rosa vd. (2017)
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Lopitz-Otsoa vd. (2006), Bourrie vd. (2016), Rosa vd. (2017)
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	Lopitz-Otsoa vd. (2006)

Kefirin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Sütte bulunan tüm besin maddelerini içeren kefir, yüksek besin değerine sahiptir. Fermantasyon sırasındaki değişiklikler sütün bileşiminde değişikliklere neden olur (Yalçın ve Işık, 2017). Kefir, proteinler, yağlar, karbonhidratların yanı sıra temel vitamin ve mineralleri de içerdiğinden, insan beslenmesinin zengin bir bileşeni haline gelmektedir (Dinç, 2008). Kefirde organik asit ve alkoller dışında özellikle B₁₂, B₁ ve K vitaminlerinin yanı sıra biotin, folik asit, kalsiyum, fosfordan ve magnezyum da bol miktarda bulunur (Dinç, 2008, Yalçın ve Işık, 2017). İçerdiği maya ve AAB'lerin proteolitik aktiviteleri sonucu oluşan serbest aminoasitler ve diğer protein hidroliz ürünleri ile B grubu vitaminleri bakımından zengin bir ürün olmaktadır (Yalçın ve Işık, 2017). Tablo 6'da kefirin kimyasal bileşimi ve besinsel değeri gösterilmektedir (Dinç, 2008).

Tablo 6. Kefirde Bulunan Bazı Kimyasal Bileşenler ve Besinsel Değer (Dinç, 2008)

Bileşen	Değer	Birim	Bileşen	Değer	Birim
Protein	3,3	g	Vitaminler		
Yağ	3,5	g	A	0,06	g
Su	87,5	mL	B ₁	0,04	g
Laktoz	4,0	g	B ₂	0,17	g
Süt asidi	0,8	g	B ₆	0,05	g
Etil alkol	0,9	g	B ₁₂	0,5	g
Kolesterol	13	mg	C	1	g
Enerji	65	kcal	D	0,08	g
Esansiyel Aminoasitler			E	0,11	g
Lösin	0,34	g	Karoten	0,02	g
İzolösin	0,21	g	Niasin	0,09	g
Lisin	0,27	g	Mineraller		
Valin	0,22	g	Kalsiyum	0,12	g
Triptofan	0,05	g	Potasyum	0,15	g
Fenilalanin+Tirozin	0,35	g	Magnezyum	0,12	g
Metionin+Sistin	0,12	g	Sodyum	0,05	g
Treonin	0,17		Fosfor	0,10	g
İz elementler			Klorid	0,10	g
Demir	0,05	mg	Çinko	0,36	mg
Bakır	12	µg	Manganez	5	µg
Molibden	5,5	µg			

Kefir içindeki mikroorganizmalar, sütü fermente ederek laktik asit, bütirik asit, piruvik asit, propiyonik asit, asetik asit ve hippurik asit, asetaldehit, CO₂, diasetil, aseton ve az miktarda alkol üreterek kefire özgü kıvam ve aroma oluşumuna katkıda bulunur. Fermente kefir ürünündeki karbondioksit içeriği kefir danesine bağlıdır ve ürünündeki kefir danesi miktarı arttıkça artar (Ahmed vd., 2013a).

Kefirin pH değeri 4,2 ile 4,6 arasında değişmektedir. Kefirin bileşimi, kullanılan sütün kalitesi ve çeşidi, kefir kültürü içindeki mikroorganizmaların çeşitliliği, kullanılan üretim teknolojileri, kuru madde miktarı, üretim sırasındaki fermantasyon sıcaklığı, fermantasyon süresi ve üretimden tüketime kadar geçen süre gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (Dinç, 2008, Ahmed vd., 2013a).

Kefir Üretimi

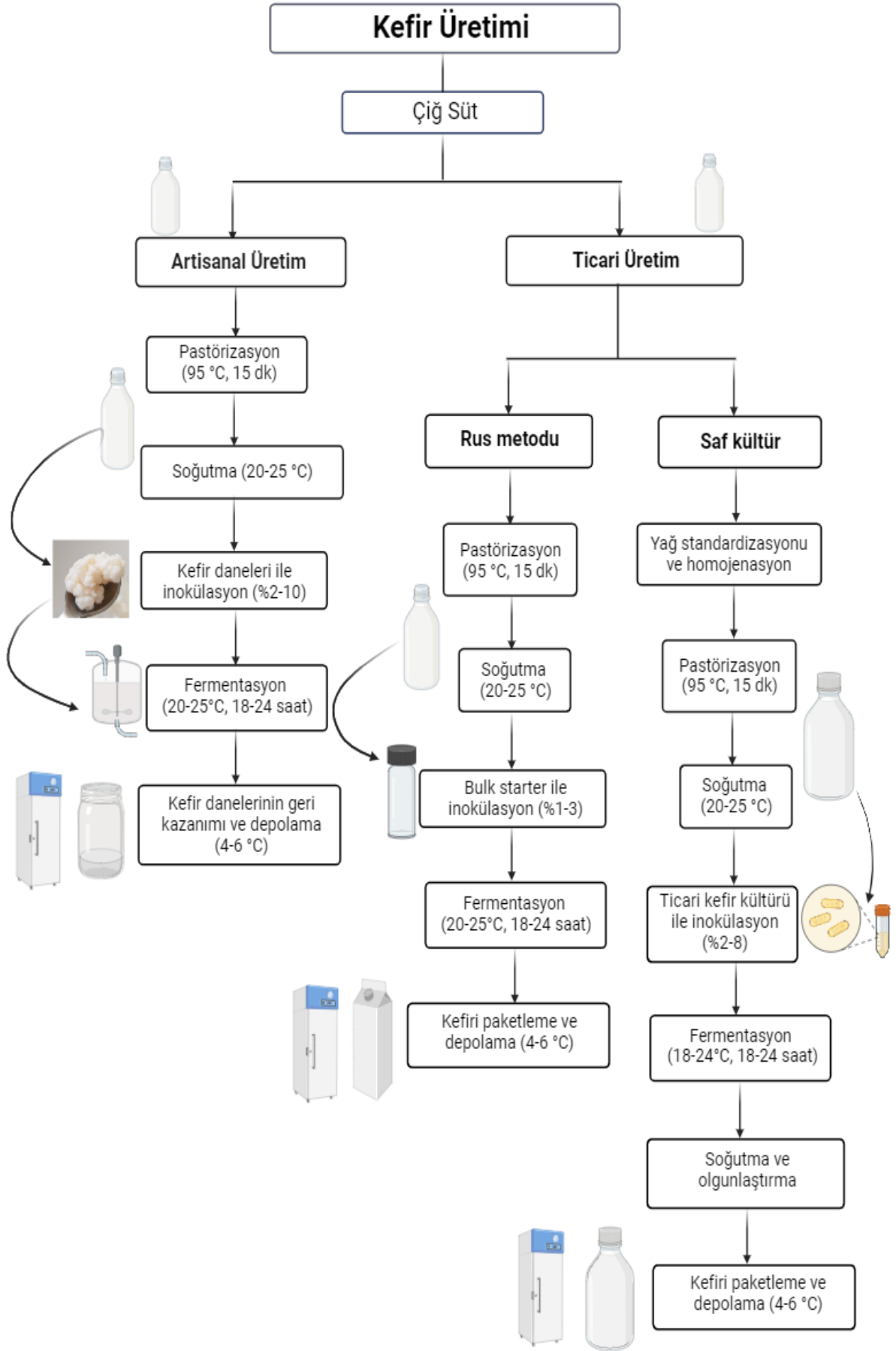
Kefir sütü fermantasyonunun diğer fermente süt ürünlerinden farklı görünen benzersiz bir özelliği, kefir danelerinin fermantasyondan sonra birçok kez geri kazanılıp yeniden kullanılabilmesidir (Liu vd., 2022). Kefirin üretiminde çeşitli teknolojiler kullanılmaktadır, ancak bunlar temel olarak geleneksel veya endüstriyel üretim süreci olarak tanımlanabilir. Geleneksel üretim şekli, kefir danelerinin süt içine doğrudan aşılması veya kefir danelerinden hazırlanan ara kültürle aşılması iken endüstriyel proses terimi, danelerden elde edilen veya izole edilen mikroorganizmaların starter kültür olarak kullanılması veya çoğunlukla DVS kültürlerinin ticari kullanımı anlamına gelmektedir (Pogacic vd., 2013, Tomar vd., 2017).

Artisanal üretim, Rus yöntemiyle ticari üretim ve saf kültürlerin kullanıldığı ticari üretim olmak üzere kefir üretiminin üç ana yolu vardır. Kefir, artisanal olarak bilinen geleneksel yöntemlerle evde üretilebilmektedir ve kefir daneleri starter kültür olarak kullanılmaktadır (Yılmaz vd., 2022). Artisanal üretim, sütün değişken miktarda (%2-10, genellikle %5) daneyle aşılmasını ve 20-25°C'de 18-24 saat süreyle fermantasyonunu içerir (Otle ve Cagindi, 2003). Fermantasyon işleminin sonunda daneler elenir ve yeni bir fermantasyon için kullanılabilir veya taze sütte (1-7 gün) tutulabilir, kefir içeceği ise 4°C'de tüketime hazır olarak saklanır (de Oliveira Leite vd., 2013). Türkiye, Arjantin, Fransa, Tayvan ve Portekiz gibi ülkelerde kefirin artisanal üretimi yaygın olarak gerçekleşmektedir (Farnworth, 2005). Artisanal kefir üretimi Şekil 2'de verilmiştir (Yılmaz vd., 2022).

Backslopping yöntemi olarak da bilinen Rus yöntemi daha büyük ölçekte kefir üretimine izin verir ve danelerin ilk fermantasyonu sonucu elde edilen süzüntüden (daneler veya ana kültür olmadan fermente edilmiş) seri olarak bir fermantasyon işlemi yapılır (de Oliveira Leite vd., 2013). Rus usulü kefir, geleneksel kefir ürününün danelerinden arındırılıp pastörize

süte %1-3 konsantrasyonunda aşılması ve ardından inkübasyon ve olgunlaşmaya tabi tutulmasıyla yapılır. Endüstriyel kefir, Rus usulü kefirin alınıp %2-3 konsantrasyonda pastörize süte aşılması ve ardından inkübasyon ve olgunlaşmaya tabi tutulmasıyla elde edilir. Her geçiş kefirin mikrobiyal bileşiminde bir değişikliğe ve içeceğin kalitesinde bir düşüşe neden olur. Endüstriyel kefire giden döngüden sonra, ürün kefir özelliklerinin çoğunu kaybetmiştir (Nielsen vd., 2014).





Şekil 2. Kefirin üretim yöntemleri (Created with Biorender.com) (Yılmaz vd., 2022)

Kefir üretiminin endüstriyel prosesinde farklı yöntemler kullanılabilir ancak hepsi aynı prensibe dayanmaktadır. Süt, kefir danelerinden ve ticari kültürlerden izole edilen saf kültürlerle aşılanır (Yılmaz vd., 2022). Olgunlaştırma aşaması gerçekleştirilebilir ya da gerçekleştirilmeyebilir; bu aşama, ürünün kendine özgü aromasına katkıda bulunan mikroorganizmaların, özellikle de mayaların büyümesine izin vermek için kefirin 8-10 °C'de 24 saate kadar tutulmasını içerir (de Oliveira Leite vd., 2013). Üretimde ticari kültür kullanımı standart bir ürün elde edilmesine yardımcı olur (Yılmaz vd., 2022). Ticari kefir üretimi Şekil 2'de verilmiştir (Yılmaz vd., 2022).

Son zamanlarda endüstriyel kefir üretiminin artması nedeniyle verimi artırmak ve kontaminasyon potansiyelini azaltmak için kefir danelerinden yapılan liyofilize kültür kullanımı artmıştır (Hertzler ve Clancy, 2003). Endüstriyel üretimde kullanılan liyofilize kültürlerin, çok az miktarda hatta çoğunlukla hiç maya içermediği belirtilmektedir. Çünkü mayaların fermantasyonu süreci sonucu oluşan CO₂ nedeniyle ürünün ambalajında oluşan görüntü, müşteriler tarafından bozuk olarak algılanmasına yol açabilmektedir. Bu nedenle, ticari amaçla üretilen kefirlerin maya içermediği belirtilmektedir. Ticari amaçla üretilen kefir kültürleri streptokokları içermekte olup, geleneksel kefirdeki gibi köpüklü bir yapıya sahip olmasa da etanol içeriği (<0,01) daha düşüktür (Marshall ve Cole, 1985).

Geleneksel ve modifiye starter kültürler kullanılarak üretilen kefirin bileşimi ve duyu özellikleri arasında farklılıklar bulunmaktadır. Özellikle modifiye kefirin daha az asidik, peynir altı suyu ayrımı çok az ve kremsi tada sahip olduğu belirtilmektedir (Lopitz-Otsoa vd., 2006)

Kefir Danelerinin Muhafazası

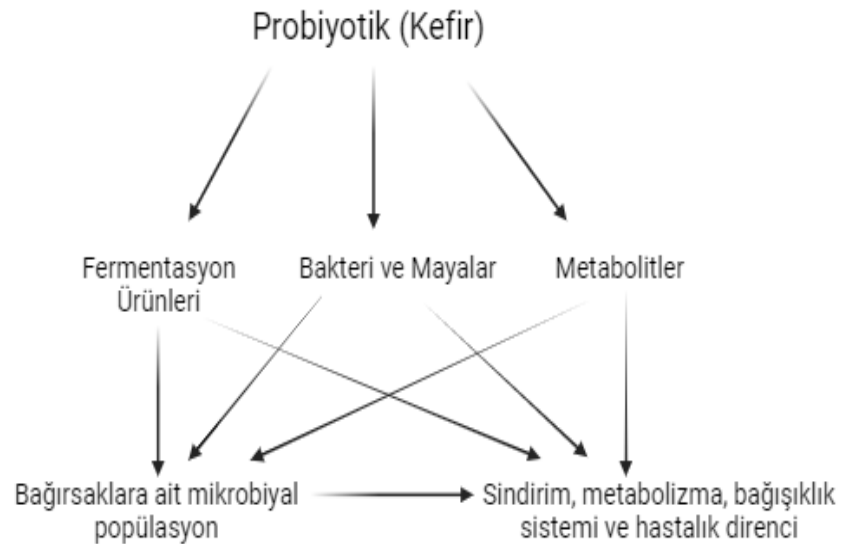
Garrote vd. (1997) tarafından yapılan çalışmada, kefir danesinin muhafazası için farklı yöntemler üzerinde çalışılmıştır. Buna göre, -20°C ve -80°C 'de donmuş olarak muhafaza edilen daneler ve 4°C 'de saklanan kefir danelerinin metabolik aktivitesi değerlendirildiğinde -20°C ve -80°C 'de saklanan daneler mikrobiyotalarını korumuş ve ağırlıkları depolanmamış danelerle benzer bir oranda artmıştır. -20°C ve -80°C 'de saklanan daneler ile elde edilen kefir, depolanmamış taze danelerle elde edilen kefir ile aynı mikrobiyota, reolojik davranış, asitlik ve karbondioksit içeriğini göstermiştir. 4°C 'de saklanan danelerden elde edilen ürün, standart ürünün asitliği ve viskozitesine sahip olmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada, -20°C 'de depolama, kefirin evde üretimi için, kefir danelerinin korunmasında iyi bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır.

Yapılan başka bir çalışmada kefir daneleri, liyofilize edilmiş düşük yoğunluklu polietilen film (LDPE), yönlendirilmiş polyester film (OPET) ve metalize edilmiş polyester

film (MOPET) dâhil olmak üzere üç farklı ambalaj malzemesinde paketlenmiş ve 3 ay boyunca depolanmıştır. Depolama sonunda MOPET filmi için, fermantasyon aktivitesinin en iyi muhafaza edildiği bulunmuştur. OPET ambalaj filmin ise kefir danelerinin mikrobiyal bileşimini en iyi şekilde korunmasını sağladığı tespit edilmiştir (Witthuhn vd., 2005b).

Kefirin Sağlık Üzerine Etkisi

Yeni fonksiyonel ürünler üretmek için gıdaları fermente etme amacının dışında bir diğer önemli amaç da mikroorganizmaları son derece yararlı olan enzimler ve biyoaktif maddeleri üretmeye yönlendirmektir (Tomar vd., 2017). Kefir, sütte bulunan tüm besin maddelerini ve yoğun mikroorganizma içerdiği için oldukça besleyici bir gıdadır (Tomar vd., 2017, Sarıca, 2022). Fermantasyon süreci süt elementlerinde değişikliklere yol açarak süte kıyasla sindirimi kolaylaştırmaktadır (Sarıca, 2022). Kefir tüketiminin artması, kefirin benzersiz duyuşal özellikleri ve insan sağlığına faydalı etkileriyle ilişkilendirilen uzun geçmişinden kaynaklanmaktadır (Wulansarie ve Fahmiati, 2022). Kafkasya halkının uzun ömürlülüğü kefir tüketimi ile ilişkilendirilmiştir. Kefir antimikrobiyal (çok çeşitli gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler ve bazı mantarlara karşı), antihipertansif, antienflamatuar, antikarsinogenik, antialerjik ve antioksidan aktiviteye sahiptir (Otles ve Cagindi, 2003, Farnworth, 2005, Diosma vd., 2014, Köroğlu vd., 2015). Bağışıklık sistemi modülasyonuna katılır, kolesterol seviyelerini azaltır, kan şekerini düzenler ve laktoz intoleransını hafifletir (Diosma vd., 2014, Köroğlu vd., 2015). Kefirin metabolizma ve sağlık üzerine probiyotik etkileri Şekil 3’de verilmiştir.



Şekil 3. Kefirin metabolizma ve sağlık üzerine probiyotik etkileri (Created with Biorender.com) (Farnworth, 2005)

Antimikrobiyal aktiviteleri: Kefirin gram negatif bakteriler üzerinde bakteriyostatik etki gösterirken, Gram pozitif bakteriler üzerinde ise bakterisidal etkisinin olduğu belirtilmiştir (Ahmed vd., 2013a, Koroğlu vd., 2015, Sarıca, 2022). Yapılan bir çalışmada, %70 kefir içeren ortamda Gram negatif bakterilerin önemli ölçüde baskılandığı, Gram pozitif bakterilerin de baskılandığı gözlemlenmiştir. Asetik asit, diasetil, laktik asit, peptitler (bakteriyosin), CO₂, etanol ve H₂O₂ gibi antibakteriyel maddelerin kefirde oluşması, gıda ürünlerinin korunmasını ve gıda kaynaklı patojenlerin azalmasını, gıda üretimini ve depolanmasını sağlar (Ahmed vd., 2013a, Yalçın ve Işık, 2017, Tomar vd., 2017). Karatepe ve Yalçın (2014) bunu, oluşan laktik asidin ortamın pH'sını düşürerek diğer bakterilerin gelişebilmesi için uygun olmayan ortam oluşması, H₂O₂'in bağırsak patojenlerine karşı antagonistik bir etki göstermesi ve asetik asidin de antibakteriyel özellikler göstermesi şeklinde açıklamaktadır.

Yapılan başka bir çalışmada, kefirin *Shigella* ve *Salmonella* enfeksiyonunun süresini ve şiddetini bebeklerde azalttığı bulunmuştur (Rattray ve O'Connell, 2011). Ayrıca in vitro çalışmalar, kefirde bulunan yararlı mikroorganizmaların, özellikle laktobasillerin ve diğer yararlı mikroorganizmaların, ortamdaki patojen mikroorganizmaların zararlı aktivitelerini engellediğini ortaya koymuştur (Tomar vd., 2017). Ayrıca granülleri çevreleyen polisakkarit matrisi olan kefirin tek başına antimikrobiyal, antifungal ve antitümöral özelliklere sahiptir (Karatepe ve Yalçın, 2014).

Yapılan araştırmalar kefir ve kefir danelerinin mide ve bağırsak mikrobiyotası başta olmak üzere pek çok mikroorganizmaya karşı antagonist etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Zacconi vd., 2003). Kefir, çok çeşitli patojenik bakteri ve maya türlerine karşı disk difüzyon yöntemiyle test edilmiş ve bu türlerin çoğuna karşı ampisilin, amoksisilin, seftriakson, ketokonazole ve azitromisin ile eşit antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. *Lactobacillus acidophilus* (*Lb. acidophilus*) ve *Lb. kefiranofaciens* gibi kefirde izole edilen diğer *Lactobacillus* türlerinin yanı sıra bazı *S. thermophilus* suşları, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. flexneri*, *P. aeruginosa* ve *Y. enterocolitica* dahil olmak üzere çok çeşitli patojen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Bourrie vd., 2016). Ayrıca aynı zamanda kefir *Candida*, *Trichopyton*, *Torulopsis*, *Microsporum*, *Rhodotorula* ve *Saccharomyces* türlerine karşı antifungal aktiviteye sahiptir (Karatepe ve Yalçın, 2014).

Antikarsinojenik etki: Kefir; mutasyonu ve DNA hasarını azaltarak, prokarsinojenik bileşikler kanserojenlere dönüştüren β -glukuronidaz, nitroredüktaz ve azoredüktaz gibi enzim aktivitelerini geciktirerek veya bağışıklık sistemini aktive ederek kanseri önler ve erken evre tümörünü baskılayarak antikarsinojenik özellik gösterir (Karatepe ve Yalçın, 2014, Wulansarie

ve Fahmiati, 2022). Kefir ayrıca kansere neden olan maddeleri (mutajenler) nötralize eder, kısa zincirli yağ asitlerinin üretimini artırır, asitliği artırır ve kanser hücresi apoptoz sürecini hızlandırır. Kefirden elde edilen spesifik kültürlerin, indol ve imidazol gibi mutajenik maddeleri bağlama yeteneğine sahip olduğu görülmektedir (Karatepe ve Yalçın, 2014).

Kefirdeki mikrofloranın antimutajenik rolü kanıtlanmış bir gerçektir. Kefirden izole edilen *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* ve *Streptococcus lactis* subsp. *cremoris* mutajenleri bağlama kapasitesine sahiptir (Hosono vd., 1990, Ahmed vd., 2013a). Kefirdeki E vitamini, selenyum, katalaz ve süperoksit dismutaz enzimlerinin antioksidatif etkisi, antikarsinojenik olarak etki eder (Delikanli Akbay, 2020). Kefirin amino asit profili beslenme açısından önemlidir. Önceki araştırmacılar süt proteinlerinin ve özellikle yüksek konsantrasyonda sülfür amino asitleri içeren kefir ve benzeri ürünlerin antikarsinojenite açısından önemli olduğunu belirtmişlerdir (Guzel-Seydim vd., 2003). Kefiran da antitümör etki gösterip, bu etkinin suda çözünmeyen polisakkaritlere göre daha fazla olduğu çalışmalarla kanıtlanmıştır (Köroğlu vd., 2015). Kefir üretiminde sütün kaynağı da belirleyici bir rol oynar ve tümör büyümesinin baskılanmasını etkilemektedir. Süt kefir %65 oranında tümör büyümesini baskılayabilirken, soya sütü kefir tümör büyümesini %71'e kadar engelleyebilmektedir (Yılmaz vd., 2022).

Yapılan birçok çalışma kefirin meme, akciğer kanserlerine, kolorektal ve malign T lenfositlerine karşı potansiyel antitümör özelliği olduğunu göstermiştir (Furukawa vd., 1990, Chen vd., 2007, Rizk vd., 2009, dos Reis vd., 2019). Furukawa vd. (1990) tarafından yapılan çalışmada, Lewis akciğer kanseri hücresi nakledilen farelere dokuz gün boyunca günde 2 g/kg fare vücut ağırlığı olacak şekilde kefir ürünü verilmiş ve %62'lik tümör büyüme inhibisyonunun sağlandığı belirtilmiştir. Cevikbas vd. (1994) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise 11 tane fareye fusiform kanser hücreleri nakledilmiş ve 0,5 mL kefir 20 gün süreyle farelere verilmiş ve tümör boyutları gözlemlenmiştir. Tedavi sonrasında iki farede tümörün gözlenmediği, beş farede tümör boyutunda azalma görüldüğü ve dört farede tümör boyutunda değişiklik olmadığı görülmüştür. Tedavi öncesi ortalama tümör boyutu $0,06 \pm 0,05$ cm³ iken tedavi sonrası ortalama tümör boyutu $0,02 \pm 0,02$ cm³ olarak bulunmuştur. Ayrıca kefir ve kan kanseri konusunda da terapi amaçlı çalışmalar yürüten çeşitli bilim insanları, kefir tüketimiyle lösemnin de tedavi edilebileceğini belirtmişlerdir. Lösemide kefirin tüketilmesi apoptozun artmasına ve hücrelerin çoğalmasının azalmasına neden olmuştur (Jambhulkar, 2020).

Laktoz intolerans: Laktoz, tüm memeli sütlerinde bulunan ana karbonhidrattır ve laktoz intoleransı laktozun hazımsızlığıyla ilişkili bir hastalıktır (Ahmed vd., 2013a). Bazı

bireyler, laktozun glikoz ve galaktoza tamamen sindirilmesini sağlayan β -galaktosidazın yetersiz varlığı nedeniyle sütteki birincil karbonhidrat olan laktozu tolere etmede zorluk yaşarlar (Hertzler ve Clancy, 2003). Kefir ve kefir danelerinde doğal olarak bulunan β -galaktosidaz, hidroliz işlemiyle laktoz içeriğini azaltarak ürünü laktoz intoleransı olan kişiler için uygun hale getirir (Hertzler ve Clancy, 2003, Ahmed vd., 2013a). Laktoz intoleransı olan kişilerin, kefir fermente olurken laktozun yaklaşık %75'inin glikoz ve galaktoza dönüştürülmesi nedeniyle kefiri diyetlerine dahil edebileceği belirtilmektedir (Sarıca, 2022). Kefirdeki daha az laktoz içeriği ve daha yüksek β -galaktosidaz aktivitesi, laktoz sindirimini iyileştirerek ve şişkinlik hissini yaklaşık %71 azaltarak kefiri laktoz intoleransı olan kişiler için uygun hale getirir (de Vrese vd., 1992, Köroğlu vd., 2015).

Bağışıklık sistemi üzerine etkileri: Fermantasyon veya sindirim ile biyoaktif peptitlerin üretilmesi, hayvan modellerinde bağışıklık sisteminin uyarılması gibi çeşitli fizyolojik etkiler göstermiştir (Tomar vd., 2017). Kefir tüketmenin hastalık riskini azalttığı ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkiler yarattığı çok sayıda çalışmayla ortaya koyulmuştur (Vinderola vd., 2005, Hong vd., 2009, Adiloğlu vd., 2013). Kefirin bağışıklık sistemini uyarması kefir danelerinde bulunan ekzopolisakkaritlerin etkisine bağlı olarak da ortaya çıkabilir (Wulansarie ve Fahmiati, 2022). İmmün sistem tedavilerinde kefirde bulunan laktik asit bakterilerinin ilaçların etkinliğini arttırdığı tespit edilmiştir (Yalçın ve Işık, 2017). Kefirin lipidlerinden elde edilen sfingomiyelin immünal sisteme etki ettiği in vivo ve in vitro çalışmalarla ortaya koyulmuştur (Osada vd., 1993, Karatepe ve Yalçın, 2014). Thoreux ve Schmucker (2001) tarafından yapılan çalışmada, kefirle 28 gün beslenen farelere 7. ve 21. günlerde kolera toksini (CT) enjekte edilmiş ve genç farelerde (6 aylık) anti-CT IgA konsantrasyonunun arttığını ve bağırsak bağışıklık sisteminin güçlendiğini; ancak yaşlı farelerde (26 aylık) ve kontrol grubunda ise herhangi bir iyileşme olmadığı görülmüştür. Bunun nedeni mukozal bağışıklık tepkisinin artmasıdır (Ahmed vd., 2013a).

Anti-alerjik etki: Kefirin anti-alerjik bir madde olduğu çeşitli bilim adamları tarafından rapor edilmiştir. Yüksek IgE reaksiyonuyla sonuçlanan Th1/Th2 hücre oranındaki farklılık, gıda alerjisinin ardındaki temel mekanizmalardan biridir. Süt bazlı kefir ve soya sütü bazlı kefir tüketimi, mikrobiyotayı değiştirerek IgE ve IgG1 tepkisini kısıtlar, gıda alerjisinin önlenmesini sağlar (Jambhulkar, 2020). Böylece bağırsak mikroflorasını değiştirerek gıda alerjisini önleyip ve gastrointestinal patojen enfeksiyonuna karşı mukozal direncin artırılması sağlanabilir (Ahmed vd., 2013a). Eozinofiller, alerjik reaksiyonlar sırasında iltihaplı bölgelerde yer alan, alerjenlerin başlattığı patolojik süreçlere aktif olarak katılan bağışıklık sistemi hücreleridir. Bronşiyal astım ve atopik dermatit gibi alerjik temelleri olan durumlarda eozinofiller hem kan

dolaşımında hem de ilgili dokuda artış gösterir. Eozinofillerin artışı veya etkisini azaltmak, alerjik hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için çok önemlidir (Köroğlu vd., 2015). Yapılan bir çalışmada kefirin, ovalbumin kaynaklı eozinofil artışı ve akciğer dokusunda aşırı mukus salgısını inhibe ettiği belirtilmiştir (Lee vd., 2007, Köroğlu vd., 2015). Bu durum kefirin alerjik bronşiyal astımın tedavisinde büyük bir terapötik potansiyel sergilediğini göstermektedir (Lee vd., 2007).

Kolesterol düşürücü etki: Kefir, kısa zincirli yağ asitleri aracılığıyla ve HMG-CoA redüktaz enziminin aktivitesini inhibe ederek kolesterol sentezinin azaltılmasında da rol oynayabilir (Angelis-Pereira vd., 2013). St-Onge vd. (2002) tarafından yapılan çalışmada, düşük kolesterolü olan 13 erkekte oluşan bir grupta 4 haftalık kefir tüketiminden sonra toplam kolesterol, düşük ve yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, trigliserit konsantrasyonları veya kolesterol fraksiyonel sentez oranları üzerinde kefir tüketiminin hiçbir etkisi olmamıştır. Hayvan deneylerinde fermente süt ürünleri ve kefir, toplam kolesterol, düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL) ve trigliseritlerin serum seviyelerinde önemli bir azalma olduğunu, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolünde ise herhangi bir değişiklik olmadığını göstermiştir (Wang vd., 2009, Bourrie vd., 2016). Çin Tibet kefirinden elde edilen *Lactiplantibacillus plantarum* (*Lpb. plantarum*) MA2'nin hem in vitro hem de in vivo kolesterol düşürücü aktivitede etkili olduğu bulunmuştur (Wang vd., 2009, Ahmed vd., 2013a). Kefirin dışında kefiranın da kolesterol ve kan basıncı düzeylerini iyileştirdiği de kanıtlanmıştır (Tomar vd., 2017). Araştırmalar, kefirin takviyesinin, yağlı bir diyetle beslenen spontan hipertansif ve felce eğilimli sıçanlarda serum toplam kolesterolü, serum LDL kolesterolü, serum trigliseritleri, karaciğer kolesterolü ve trigliseritlerinde azalmaya yol açtığını göstermektedir (Maeda vd., 2004). Kefirde bulunan LAB'lerden *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (*L. lactis* subsp. *lactis*), *Lb. acidophilus*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (*L. lactis* subsp. *cremoris*), *Leuconostoc cremoris* (*Leu. cremoris*), *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis* (*S. lactis* subsp. *diacetylactis*), *Lactobacillus helveticus* (*Lb. helveticus*), *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (*S. salivarius* subsp. *thermophilus*), *Lactocaseibacillus casei* (*Lcb. casei*), *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* (*Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*) ve sakarozu fermente edemeyen *Saccharomyces cerevisiae* (*Sacc. cerevisiae*) mayasının suşlarından seçilmiş starter ile üretilen fermente sütün serum kolesterolü ve karaciğer yağ konsantrasyonlarını düşürme üzerindeki etkisi, yüksek kolesterolü diyetle tutulan farelerde belirlenmiştir. Buna göre, fermente süt ürününün yüksek kolesterolü bir diyetle dahil edilmesi, farelerde toplam serum kolesterolü ve fosfolipid seviyelerini dikkate değer bir şekilde düşürmüştür (Tamai vd., 1996, Karatepe ve Yalçın, 2014). Ayrıca LAB'ın kolesterolü %33 oranında azalttığı bildirilirken, kefir

daneleri ile 24 saatlik fermentasyondan sonra kefir kültürleri tarafından kolesterolün asimile edilmesiyle ortamdaki kolesterolün %28-65'inin absorbe edildiği gözlemlenmiştir (Yılmaz vd., 2022).

Kan şekeri düzenleyici etkisi: Kwon vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada, soya sütü ve Rhodiola ekstraktlarıyla birlikte üretilen kefirin daha iyi bir anti-diyabetik işlevsellik sergilediği belirlenmiştir. Bu ürün, yemek sonrası hiperglisemiye değiştiren fenolik bileşikler hareketine geçirmiştir (Kwon vd., 2006, Ahmed vd., 2013a). Kefirin kan şekerini düzenleyici etkilerine ilişkin çalışmalar bulunmaktadır. Kefiranın iskelet kası hücrelerinde glikoz alımını arttırdığı, Tip 2 diyabetin tedavisinde potansiyel faydası olduğu öne sürülmüştür. Bu aktif maddenin küçük bir moleküler yapıya sahip olduğunu, bu sayede sıcaklık ve pH değişimlerine karşı dirençli olduğunu ortaya koymuştur. Böylece, suda çözünebilir ve aktif olan kefiranın, ağızdan alım sırasında mide asidine dayanabildiği ve kompakt yapısı nedeniyle bağırsaktan kolaylıkla emilebildiği düşünülmektedir (Teruya vd., 2002, Köroğlu vd., 2015).

Kan basıncı üzerine etkisi: Hayvan modellerinde kefirin, özellikle yüksek miktarlarda diyet kolesterolü tüketen test organizmasında kan basıncını ve serum kolesterolünü önemli ölçüde azaltmaktadır (Maeda vd., 2004). Kan basıncındaki azalma, anjiyotensin dönüştürücü enzimin baskılanmasına bağlanabilir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri hipertansiyon tedavisinde kullanılan en önemli ilaçlar arasındadır. Kefirdeki on altı peptitten ikisi anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitör aktivite göstermiştir (Quirós vd., 2005). Kefirden izole edilen *Lb. helveticus* kullanılarak süt tozu fermentasyonu yapıldığında da kan basıncı üzerine olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Aihara vd., 2005).

Kefir ile ilgili yapılan çalışmalar

İnsan sağlığı üzerine olumlu etkileri olan kefire talebin giderek artmasından dolayı kefir üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Bu bölümde literatür taraması sonucunda kefir üzerine yapılan bazı çalışmalar özetlenmiştir. Yapılan birçok çalışmada, kefir starter kültüründen ve kefir danesinden kefir üretimi yapıp bu kefirin fizokimyasal, duyuşal ve mikrobiyolojik özelliklerine bakılmıştır.

İskoçya ve Polonya'da inek, keçi, koyun sütleriyle farklı starter kültür kullanılarak üretilen kefirlerin mikrobiyolojik, fizokimyasal ve duyuşal özellikleri incelenmiştir. Örneklerin mikrobiyal kalitesinin yüksek olduğu, LAB ve mayaların baskın tür olduğu tespit edilmiştir. Kefir örneklerinin duyuşal özelliklerinin, depolama ve süt çeşidinden etkilendiği belirlenmiştir. Bu çalışmanın en önemli sonucu, süt türünün duyuşal profil üzerinde starter kültürlerden daha büyük bir etkiye sahip olduğudur (Wszolek vd., 2001).

Kefirden dondurma yapımının araştırıldığı bir çalışmada, çeşitli formülasyonlarda kefir dondurulması üretilmiş ve 30 gün -16°C'de depolanmıştır. Depolamanın 1., 15. ve 30. günlerinde kefirle üretilen dondurmaların fizokimyasal, duyu ve mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Buna göre dondurmaların depolama süresince laktobasil, streptokok ve mayalar büyük oranda canlılıklarını korurken, dondurmaların fiziksel ve kimyasal özelliklerinde de önemli değişimlerin meydana gelmediği tespit edilmiştir (Demir, 2001).

Yapılan başka bir kefirli dondurma üretme çalışmasında, farklı formülasyonlarda kefir ve yaban mersinden oluşan kefir dondurmaları üretilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, kefir ve yaban mersini konsantrasyonu arttıkça pH değeri ve viskozitesi azalmış, titrasyon asitliği ise artmıştır. Yaban mersini ilavesiyle laktik asit bakterisi, *S. thermophilus*, *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve maya sayılarını azaltırken, kefir ilavesi bu mikroorganizmaların sayılarını azaltmıştır (Aliyev, 2006).

Ulusoy (2007) fermente sucuk üretiminde kefir kültürünün hem tek başına hem de klasik sucuk kültürü ile değişen oranlarda kombinasyon halinde starter kültür olarak kullanılmasının mikrobiyolojik ve kalite açısından uygunluğunu araştırmıştır. Yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre, ürün hijyeni ve halk sağlığı açısından risk taşıyan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, sülfid indirgeyen anaerob bakteri ve koliform bakteriler gibi bakterilerin kefirle üretilen sucuk gruplarında diğer gruplarla karşılaştırıldığında muhafazanın daha erken dönemlerinde inhibe olduğu belirlenmiştir. Panelistlerin duyu değerlendirme, kefir kültürüyle üretilen fermente sucukların duyu özellikleri açısından olumlu karşılandığını göstermiştir. Böylece fermente sucuklarda kefir kültürü ilavesinin mikrobiyolojik kaliteye olumlu etki yaptığı, tat ve aroma açısından kabul edilebilir seviyeye ulaştığı sonucuna varılmıştır.

Ülkemizde yapılan bir yüksek lisans çalışmasında Ankara'da marketlerde satılan 120 tane kefir alınıp bunların mikrobiyolojik kalitesine ve kimyasal özelliklerine bakılmıştır. İncelenen kefirlerin aerob mezofil genel canlı sayısı ortalama 8,68 log kob/mL, laktobasil düzeyi 8,33 log kob/mL ve maya düzeyi 3,92 log kob/mL olarak bulunmuştur. Tüm kefirlerin asitlik değerinin Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünler Tebliği'ne uygun olduğu tespit edilmiştir (Dinç, 2008).

Yapılan bir çalışmada inek, keçi ve koyun sütü kullanılarak dane ve ticari kefir mayasıyla üretilen kefirler 15 günlük depolama süresince kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri açısından araştırılmıştır. Depolama sırasında tüm kefir numunelerinde asitlik seviyelerinin arttığı bulunmuştur. Ticari kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir numunelerinde laktokok sayısı artarken, dane ile üretilen kefir numunelerinde azalmıştır. Tüm örneklerde

laktobasil ve maya sayıları depolanma boyunca değişmemiştir. Kefir örneklerinde koliform ve *E. coli* tespit edilmemiştir (Öner vd., 2010).

Arslan (2015)'ın yapmış olduğu doktora tezinde, kefir danesi ve kefir starter kültürü kullanarak farklı pH ve sıcaklıklarda üretim yapmış, ardından kefirin 30 günlük depolanmasıyla mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerin değişimi incelenmiştir. Depolama süresi sonunda kefir örneklerinde serum ayrılmasında artma olduğu; pH ve titrasyon asitliğinde ise değişme olmadığı belirlenmiştir. Farklı inkübasyon sıcaklığı pH üzerinde önemli bir fark oluşturmazken, titrasyon asitliği ve serum ayrılması üzerinde etkisinin fazla olduğu; farklı inkübasyonu sonlandırma pH'larında kurumadde, proteolitik aktivite ve kül üzerinde anlamlı fark olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca depolama esnasında kefir örneklerinde laktobasil, toplam aerobik mezofilik bakteri, laktokok, lökonostok ve asetik asit bakteri sayılarının azalırken maya sayılarının arttığı bulunmuştur.

Başka bir doktora tezi çalışmasında manda ve inek sütünden kefirler yapılmış ve 21 günlük depolama süresi boyunca fizikokimyasal, duyuşal ve mikrobiyolojik özelliklerine bakılmıştır. Bunun sonucunda *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* ve maya sayıları 14 günlük depolama boyunca artış göstermiş olduğu, depolama süresinin sonuna doğru ise azaldığı tespit edilmiştir. *Lb. acidophilus* sayısının ise tüm depolama boyunca düşmüş olduğu belirlenmiştir (Tomar, 2015).

Ülkemizde yapılan bir yüksek lisans çalışmasında ise rendelenmiş Trabzon hurması, muz ve elma kullanılarak kefir yoğurdu üretilip bunun fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerindeki değişime depolama süresince (14 gün) bakılmıştır. pH değerleri meyve çeşitliliği ve depolamadan etkilenmezken, titrasyon asitliğinin etkilendiği bulunmuştur. Viskozite değerlerinin ise 1. günde en yüksek olurken 7. günde en düşük olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca en çok serum ayrılmasının elma ilaveli kefir yoğurtlarında olduğu görülmüştür Koca (2016).

Dertli ve Çon (2017)'un yapmış oldukları yayında dört farklı kefir danesinin mikrobiyal çeşitliliğinin kefir aroması üzerindeki etkilerine bakılmış ve mikrobiyal çeşitlilikle uçucu bileşenlerin ilgili olduğu ortaya koyulmuştur.

Çıray (2017) tarafından yapılan yüksek lisans çalışmasında İstanbul'da marketlerde satılan 100 adet farklı kefir örneği mikrobiyolojik olarak test edilmiştir. Kefir örneklerinin laktobasil sayılarının 7,29 log kob/mL, laktokok sayılarının ortalama 8,33 log kob/mL ve maya sayılarının 3,48 log kob/mL olduğu belirlenmiştir. Mikrobiyolojik olarak analiz edilen kefir

örneklerinin laktobasil ve laktokok sayısı olarak tamamı, maya sayısı olarak ise sadece %24'ünün Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne uygun olduğu tespit edilmiştir.

Atılğan (2018) tarafından yapılmış olan yüksek lisans tezinde ise doğal kefir danesi ve ticari kültür kullanılarak üretilen kefirlerin farelerde tüketimi sağlanmış ve böylece kefire özgü laktik asit bakterilerinin fare gaitalarına transfer olup olmadığı belirlenmiştir. Bunun sonucunda doğal kefir danesinden üretilen kefirle beslenen farelerin gaitalarında *Lb. kefiranofaciens*, *Len. kefiri* ve *Len. parakefiri*'nin 10. gün sonundaki miktarı sırasıyla 3,24 log kob/g, 2,28 log kob/g ve 4,85 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Yapılan başka bir yüksek lisans tezinde, doğal kefir danesi ve starter kültür kullanılarak üretilen kefirin immün sistemi üzerine etkilerine in vivo olarak bakılmıştır. Çalışma sonunda daneden üretilen kefirin probiyotik özelliğinin daha fazla olup birçok immünolojik mekanizmayı modüle etme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir (Davras, 2018).

Ak (2018)'ın yapmış olduğu yüksek lisans tezinde çeşitli meyve sosları ve kefir starter kültürleri kullanılarak kefirde fizikokimyasal, duyuusal ve mikrobiyolojik analizler depolama süresi boyunca (1., 8., ve 15. gün) incelenmiştir. Mikrobiyolojik analiz olarak sadece kefirde bulunan laktik asit bakterilerinin sayılarındaki artış ve azalma tespit edilmeye çalışılmıştır. Buna göre depolama süresi boyunca tüm örneklerin pH ve su tutma kapasitesi değerleri ile LAB sayıları azalma gösterirken; titrasyon asitliği ve viskozite değerleri artış göstermiştir. Depolama süresi boyunca kefirlerin duyuusal özelliklerine verilen puanlar da azalmıştır.

Akbörü (2019) tarafından yapılan yüksek lisans tezinde, Türkiye piyasasındaki farklı ticari firmalardan 5 adet kefir kültürü ve Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi bölümünden 1 adet dane alınmış ve bu kültürlerle üretilen kefirlerin fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuusal özellikleri incelenmiştir. *Lactobacillus* sayısı 7,6 log kob/mL, *Lactococcus* sayısı 8,16 log kob/mL, *Leuconostoc* sayısı 6,37 log kob/mL, *S. thermophilus* sayısı 8,04 log kob/mL, asetik asit bakterileri sayısı 4,08 log kob/mL ve maya sayısı 4,67 log kob/mL, olarak bulunmuştur.

Sarıca (2019)'ın yapmış olduğu doktora çalışmasında inek ve keçi sütleri kullanılarak kefir üretilmiş ve örnekler hem buzdolabında hem de dondurarak muhafaza edilerek meydana gelen değişimler depolama süresince incelenmiştir. Buna göre buzdolabında depolanmış keçi sütü ile üretilen kefir örneğinin pH değeri yüksek bulunurken; inek sütünden elde edilen kefirin viskozite değeri yüksek olmuştur. Her iki örnekte depolanma süresi boyunca asitlik ve viskozite artarken serum ayrılması değeri azalmıştır. Depolanma esnasında her iki örneğin de,

hem buzdolabında hem de dondurarak muhafazası ile laktobasil, lökonostok, laktokok, asetik asit bakteri, toplam mezofilik aerobik bakteri ve maya sayıları azaldığı tespit edilmiştir.

Akdan (2020)'ın yapmış olduğu tez çalışmasında, manda, koyun, inek ve keçi sütlerinden çeşitli kombinasyonlar oluşturularak piyasaya alternatif bir kefirin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Üretilen kefirlerin ise toplam fenolik madde miktarı, reolojik özellikleri, antioksidan aktiviteleri ve proteinlerinin hidrolize olma dereceleri araştırılmıştır. Kefirlerin mikrobiyolojik olarak değerlerinin mevcut çalışmalarla benzer olduğu, ancak duysal olarak büyük beğeni almadığı tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı gallik asit cinsinden yüksek değilken, antioksidan aktivitelerinin inek sütüne göre daha fazla olduğu belirtilmiştir.

Hassan (2020)'ın yapmış olduğu çalışmada farklı bölgelerden temin edilmiş 5 farklı kefir danesi ve Kırgızistan'da bulunan bir süt ürününden probiyotik suşların tanımlanması için SYBR green bazlı Real Time-PCR kullanılmıştır. Ayrıca çalışmada, kefir örneklerinden elde edilen izolatların tanımlaması da yapılmıştır. Real Time-PCR analizinden elde edilen amplifikasyon ve erime eğrisi sonuçlarına göre, tüm kefir örneklerinde *Len. kefiri*, *Lb. kefiranofaciens*, *Lcb. casei*, ve *Lcb. paracasei* baskın grup olurken; birkaç kefir örneğinde *Lb. acidophilus*, *Limosilactobacillus fermentum* (*Lim. fermentum*), *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lacticaseibacillus amylovorus* (*Lcb. amylovorus*), *Lpb. plantarum*, *S. thermophilus* ve *Sacc. cerevisiae* tespit edilmiştir.

Purutoğlu vd. (2020)'ın yapmış olduğu çalışmada ise farklı bölgelerden alınan 6 farklı kefir danesinin mikrobiyal çeşitliliğine bakılmış ve izole edilen LAB'lerin ve mayaların tanımlanması yapılmıştır. LAB'lerin antimikrobiyal ve antifungal özellikleri, antibiyotik dirençleri ve ürettikleri ekzopolisakkarit (EPS) miktarı ve EPS karakteristikleri belirlenmiştir. Test edilen tüm LAB, glikoz ve galaktoz içeren bir ekzopolisakkarit (EPS) ürettiği ve bazı suşların ise homopolimerik fruktan tipi bir EPS oluşturduğu belirtilmiştir. Ayrıca kefir izolatlarının önemli düzeyde antimikrobiyal ve antifungal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Aydın ilinde marketlerden temin edilen 60 adet kefir örneği kimyasal ve mikrobiyolojik olarak incelenmiştir. Çalışmada incelenen sade kefir örneklerinin laktobasil, laktokok, TMAB, maya ve küf sonuçlarının ortalama değerleri sırasıyla, 6,84 log kob/mL, 7,12 log kob/mL, 7,25 log kob/mL, 3,81 log kob/mL olarak bulunurken, meyveli kefir örneklerinin 6,65 log kob/mL, 7,05 log kob/mL, 6,73 log kob/mL, 4,35 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Kefirlerin titrasyon asitliği de tebliğe uygun olarak bulunmuştur (Ateş, 2021).

Akay Yüce (2022) tarafından yapılan çalışmada 5 farklı ev yapımı kefirde izole edilen 23 LAB suşlarının potansiyel özellikleri in vitro olarak incelenmiştir. Gram pozitif ve katalaz negatif sonuç veren 12 tane suşa pH, antimikrobiyal aktivite, pepsine direnç, hemolitik aktivite, proteolitik aktivite, safra tuzu ve antibiyotik direnci, oto-agregasyon ve ko-agregasyon ve ağır metallerle direnç testleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçta 3 adet suşun probiyotik olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğu ve bunların *Enterococcus durans* olduğu belirlenmiştir.

Bodur (2023), tarafından yapılan çalışmada da kefirde (12 tane ticari, 3 tane ev yapımı) izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik özellikleri ve biyolojik aktiviteleri belirlenmiştir. Toplamda 142 adet izolattan 37 tanesinin muhtemel laktik asit bakterisi olduğu düşünülmüştür. Yapılan kuyu difüzyon test sonucuna göre 3 izolatin (X51, X55, Y54) *Streptococcus mutans* ATCC35668 üzerinde bakteriyosin oluşturduğu gözlemlenmiştir. *Acetobacter fabarum* (X51 ve X55) ve *Leuconostoc mesenteroides* (*Leu. mesenteroides*) (Y54) suşları sekans ile belirlenmiştir. Bu 3 izolatin antibiyotik dirençlerinin olmadığı da yapılan testle belirlenmiştir. *Leu. mesenteroides* (Y54) izolatinın 15°C’de ve pH 7’de gelişme göstermesi, antibiyotiklere duyarlı olması, bu bakterinin gelişim sıcaklığı ve bakteriyosin üretimi starter kültür ve probiyotik olarak kefir üretiminde kullanılma potansiyeli olduğunu göstermiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplamda 30 adet farklı kefir danesi temin edilmiştir. 30 kefir danesinden 3 tanesi ticari kefir danesi olup, diğer 27 tanesi evlerinde geleneksel olarak kefir mayalayan, bilime katkı sağlamak için gönüllü olarak kefirlerini paylaşan kişilerden sosyal medya aracılığı ile elde edilmiştir. Gönüllü olarak kefirlerini paylaşan vatandaşlardan alınan 27 kefir danesinin, bu kişiler tarafından en az bir kez fermentasyonda kullanıldığı belirtilmiştir. Elde edilen daneler yağsız süt içerisinde 4°C'de buzdolabı şartlarında muhafaza edilmiş ve hızlıca mikrobiyolojik analize tabi tutulmuşlardır. Çalışmada kullanılan bazı kefir danelerinin görüntüsü Şekil 4'de, kefir danelerine ait genel bilgiler ise Tablo 7'de görülmektedir.

Tablo 7. Çalışmada Kullanılan Kefir Danelerine Ait Genel Bilgiler

Örnek No	Temin Edildiği Şehir	Dane Türü	Örnek No	Temin Edildiği Şehir	Dane Türü
1	Erzurum	Geleneksel	16	İstanbul	Geleneksel
2	Tahran/İran	Geleneksel	17	Gaziantep	Geleneksel
3	Erzurum	Geleneksel	18	İstanbul	Ticari (Aktar)
4	İstanbul	Geleneksel	19	Ankara	Geleneksel
5	İstanbul	Geleneksel	20	İstanbul	Ticari (Aktar)
6	Van	Geleneksel	21	İstanbul	Geleneksel
7	İstanbul	Geleneksel	22	İstanbul	Geleneksel
8	İstanbul	Geleneksel	23	İstanbul	Geleneksel
9	İzmir	Geleneksel	24	Ankara	Geleneksel
10	İstanbul	Geleneksel	25	İstanbul	Geleneksel
11	Erzurum	Geleneksel	26	İstanbul	Geleneksel
12	Ankara	Geleneksel	27	Erzurum	Ticari (Aktar)
13	Ankara	Geleneksel	28	Erzurum	Geleneksel
14	Bayburt	Geleneksel	29	Erzurum	Geleneksel
15	Erzurum	Geleneksel	30	Edirne	Geleneksel



Şekil 4. Çalışmada kullanılan bazı kefir daneleri

Metot

Bu çalışmada, Türkiye'nin farklı illerinden toplanan 30 kefir danesinin mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Bu danelerden izole edilen bakteri ve mayaların moleküler tanımlanması gerçekleştirilmiş, probiyotik ve teknolojik özellikleri belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre belirlenen izolatlarla kefir üretimi gerçekleştirilmiş ve bu kefirlerin 21 günlük depolama boyunca bazı özellikleri araştırılmıştır.

Kefir danesinde yapılan mikrobiyolojik analizler

Temin edilen kefir daneleri, mikrobiyolojik profilinin belirlenebilmesi için laktik ve asetik asit bakteri ve maya ve küf açısından incelenmiştir. 30 farklı kefir danesinin mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi amacı ile laktik basil, laktik kok, asetik asit bakteri, maya ve küf mikroorganizmaların sayımı gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyolojik analizler için kefir daneleri hassas terazide tartılarak ağırlıkları belirlenmiştir. Daha sonra ağırlıklarının 9 katı kadar tuzlu peptonlu su (%0,85 NaCl ve %0,1 pepton) ilave edilerek homojen bir karışım elde edilene kadar Stomacher cihazında (Mayo) danenin parçalanması işlemi gerçekleştirilmiştir. Seri dilüsyon yöntemi ile mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir (Harrigan, 1998).

Laktik basil sayımı

Danelerin *Lactobacillus* spp. bakteri sayısını belirlemek için MRS (de Man, Rogosa, Sharpe, Merck, Darmstadt, Almanya) agar kullanılmış olup Speck (1984) ve Pichhardt vd. (2004)'in yöntemine göre ekim ve sayım yapılmıştır. Bu amaçla petriler, yayma ekim işlemi ardından Anaerocult A (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılarak 2-3 gün 30-32°C'de Anaerobik jar (Merck, Darmstadt, Almanya) içerisinde anaerobik olarak inkübasyona bırakılmıştır.

Laktik kok sayımı

Danelerin *Lactococcus* spp. içeriğinin belirlenebilmesi için ise M17 (Merck, Darmstadt, Almanya) besiyeri kullanılmış olup Pichhardt vd. (2004) ve Öner vd. (2010)'in yöntemine göre ekim ve sayım yapılmıştır. 24 saat 30-32°C'de tüm petriler aerobik şartlarda inkübasyona bırakılmıştır.

Asetik asit bakteri sayımı

Muhtemel asetik asit bakterilerinin (AAB) sayımı için Glukoz-Yeast extract-Calsium carbonat (GYC) agar kullanılmış olup Sharafi vd. (2010)'in yöntemine göre ekim ve sayım yapılmıştır. GYC agar (%5 D glikoz, %1 maya ekstraktı, %1,5 CaCO₃, %0,005 bromocresol

purple ve %1,5 agar) mevcut literatür bilgisi çerçevesinde hazırlanmıştır. Bu nedenle GYC besiyeri hazırlanıp sterilize edildikten sonra petri plaklarına dökülerek katılaşması sağlanmıştır. Maya ve küf gelişiminin engellenmesi için 100 ppm Cycloheximide (Sigma) homojen bir karışım olacak şekilde besiyeri sterilize edildikten sonra eklenmiştir (Yetiman ve Kesmen, 2015). Ekimden sonra tüm petriler 30°C’de aerobik şartlarda 1-2 gün inkübatörde bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda, muhtemel AAB’lerin kalsiyum karbonatı kullanarak besiyerinde oluşan sarı veya yeşil renkli koloniler belirlenerek izolasyon işlemine devam edilmiştir (Sharafi vd., 2010, Bilginer, 2018).

Maya ve küf sayımı

Potato Dextrose Agar (PDA, Merck, Darmstadt, Almanya) maya ve küf sayımı için kullanılmış olup Speck (1984) ve Tournas vd. (1998)’in ekim ve sayım yöntemi uygulanmıştır. Buna göre sterilize edildikten sonra 45°C’ye kadar soğutulmuş olan PDA agar içerisine %10’luk steril laktik asit çözeltisi eklenerek besiyeri pH’sı 3,5’a ayarlanmış ve homojen olacak şekilde karışması sağlanmıştır. Petriler, ekim sonrası oda sıcaklığında 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon bittikten sonra gözlenebilen koloniler mikroskopik ve makroskopik kontrol edilerek sayılmıştır.

Muhtemel laktik asit, asetik asit bakterilerinin ve mayaların izolasyonu

Kefir danelerinden muhtemel LAB’ların AAB’lerin ve mayaların izolasyonu için inkübasyon sonunda MRS, M17, GYC ve PDA agarlar üzerinde gelişen koloniler makroskopik ve mikroskopik özelliklerine göre farklı yapıda ve renkte olanlar dikkate alınarak seçilmiş ve üçlü çizim yöntemi kullanılarak saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Saflaştırılan izolatlar daha sonraki analizler için %40 gliserol çözeltisi içerisinde -80°C’de muhafaza edilmiştir.

İzolatların fenotipik karakterizasyonu

Kefir danelerinden izole edilen izolatların fenotipik karakterizasyonu için Gram boyama, katalaz testi yapılmış, mikroskopik özellikleri incelenmiştir.

Gram boyama

Kefir danelerinden izole edilen muhtemel LAB ve AAB’lerin Gram özelliklerinin belirlenmesi için boyama işlemi yapılmıştır. Besiyerlerinde geliştirilen genç kültürler lam üzerine alınarak alev ile fikse edilmiştir. Daha sonra kristal viyole, lügol çözeltisi, etil alkol ve karbol füksin ile boyanmıştır. Işık mikroskobu ile 100X objektif altında mavi renkte görünen bakteriler Gram (+), kırmızı renkli izolatlar Gram (-) olarak belirtilmiştir (Sert, 2000).

Katalaz testi

Katalaz enzimi ile hidrojen peroksit (H₂O₂) parçalanarak su ve oksijen açığa çıkmaktadır. Saf genç kültürler öze ile alınıp üzerine birkaç damla %3'lük H₂O₂ (Merck, Darmstadt, Almanya) damlatılmıştır. Gaz oluşumu olup olmadığı gözlemlenerek, gaz oluşturan izolatlar katalaz pozitif, oluşturmayanlar negatif olarak değerlendirilmiştir (Pichhardt vd., 2004).

Muhtemel laktik asit, asetik asit bakterilerinin ve mayaların makroskopik ve mikroskopik özelliklerinin incelenmesi

Kefir danelerinden elde edilen izolatların saf olması için koloniler makroskopik ve mikroskopik olarak incelenmiştir. Makroskopik olarak; petri plağı üzerindeki koloninin renk, boyut ve şekli kaydedilmiştir

İzolatlar mikroskopik olarak, lam lamel arası preparat hazırlanarak ışık mikroskobu kullanılarak incelenmiş ve hücre şekli kok ve basil olarak kaydedilmiştir (Sert, 2000).

İzolatların genotipik karakterizasyonu ve tanılanması

Kefir danelerinden elde edilen izolatların iki aşamalı olarak genotipik karakterizasyonu yapılmıştır. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) ve repetitive element sequence-based PCR (rep-PCR) parmak izleri (fingerprint) kullanılarak ilk olarak izolatların suş seviyesinde ayrımı sağlanmıştır. Daha sonra elde edilen fingerprintler gruplandırılarak her bir grubu temsil eden bakteriler için 16S rRNA, mayalar için 28S rRNA sekans işlemi gerçekleştirilerek genetik tanı işlemi yapılmıştır (Garbers vd., 2004, Ercolini, 2004, Kök Taş vd., 2012, Marsh vd., 2013). *Lc. lactis* ve *Lc. cremoris* izolatlarının sekans sonuçlarının ayrımının tam olmamasından dolayı ve sekans sonuçlarının doğruluğunu teyit etmek için ilgili spesifik primer gruplarında bulunan tüm izolatlara *Lb. kefiranofaciens*, *Lc. lactis* ve *Lc. cremoris* türlerine ait spesifik primerlerle PCR işlemi gerçekleştirilmiştir.

Genomik DNA izolasyonu

-80°C'de gliserol çözeltisi (%40'lık) içerisinde muhafaza edilen tüm bakteri izolatları MRS, M17 ve GYC besiyerlerinde tekrar canlandırılıp saflıkları kontrol edildikten sonra steril saf suda süspansiyon edilmiştir. DNA izolasyon işlemi için Singh ve Ramesh (2009) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. Buna göre, ilk olarak bakteri süspansiyonu oda sıcaklığında 3 dk 5000 × g'de santrifüj edilmiştir. Daha sonra süspansiyon 3 kez fosfat tamponu (PBS) ile yıkamış bir kez de ultra saf su ile yıkamıştır. Yıkama sonrası bakteri 0,1 mL %10 SDS ve 0,5 mL 6 M üre ile yeniden süspansiyon edilmiş ve 37°C'de 20 dakika inkübe edilmiştir. Süspansiyon

kaynayan su içinde 5 dk bekletilmiş ve 25°C'de 10 dakika 8000 × g'de santrifüj işleminden sonra supernatant atılmıştır. Kalan pellet üzerine 0,2 N NaOH'tan 0,1 mL eklenmiş ve 10 dk 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 3 dk 25°C'de 3000 × g'de santrifüj edilerek hücresel parçaların ayrılması sağlanmıştır. Supernatant içerisine 2,5 hacim absolute alkol ilave edilmiş ve 2 saat -20 °C'de bekletilerek DNA çöktürülmesi sağlanmıştır. Daha sonra 15 dk 4°C'de 13200 × g'de santrifüj işlemi gerçekleştirilmiş ve %70'lik etanol ile yıkama yapılmıştır. Yıkama sonrası oda sıcaklığında DNA pelleti kurutulmuş ve üzerine 20 µL Tris-EDTA tamponu eklenerek süspansiyon oluşturulmuştur. Elde edilen template DNA PCR işleminde kullanılmaya hazır hale gelmiştir.

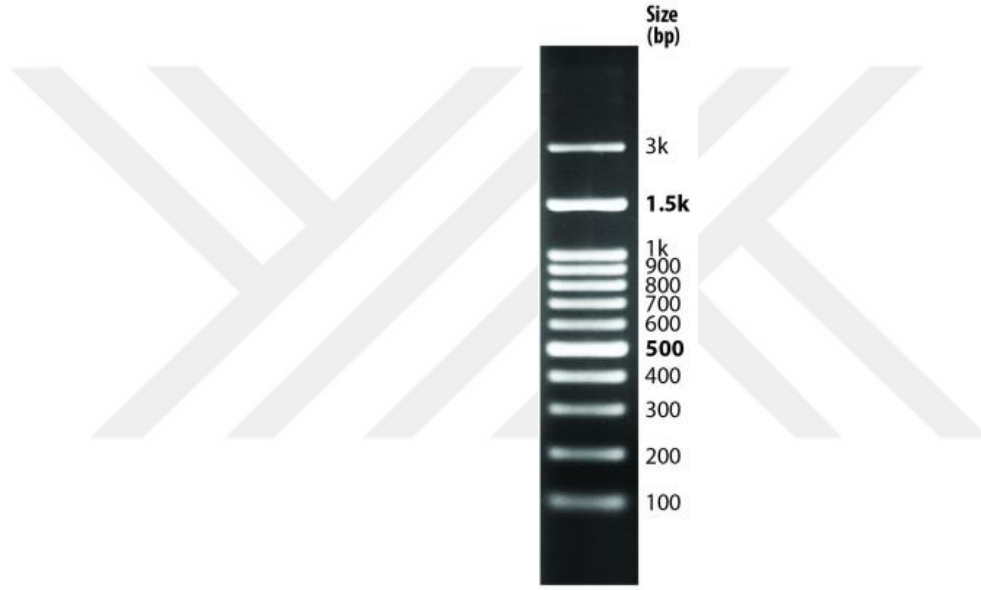
Bakteri izolatları gibi muhafaza edilen tüm maya suşları PDA besiyerinde tekrar canlandırılıp saflıkları kontrol edildikten sonra steril saf suda süspanse edilmiştir. Mayalardan DNA izolasyonu için Lööke vd. (2011) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. Buna göre, süspansiyondan 100 µL alınıp 20000 × g'de 3 dk santrifüjlenmiştir. Pelet %1 SDS içeren 100 µL 200 mM LiOAc (Lityum asetat) ile süspanse edilip 70°C'de 5 dk inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrası 300 µL absolute etanol ilave edilip vortekslenmiştir. DNA ve hücre kalıntıları 15000 × g'de 3 dk santrifüjlenmiştir. Elde edilen pellet %70 etanol ile yıkanıp kurutulmuş ve 100 µL steril saf su içinde yeniden süspanse edilmiştir. Template DNA PCR işleminde kullanılmıştır.

Repetitive element sequence-based PCR (Rep-PCR) ve Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) profillerinin belirlenmesi

Kefir danelerinden elde edilen bakteri suşlarının repetitive element sequence-based PCR (rep-PCR) profilleri (GTG)₅ primeri (5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3') (Tablo 8) primeri kullanılarak belirlenmiştir (Dertli vd., 2016). Toplam hacim 25 µL olacak şekilde PCR tüpüne sırasıyla 12,5 µL PCR master mix (EcoTaq 2× PCR Master Mix, Eco-Tech Biotechnology, Erzurum, Turkey), 11 µL nükleaz içermeyen su, 1 µL primer ve 0,5 µL genomik DNA eklenmiştir. PCR işlemi; 98°C'de 30 sn ilk denatürasyon, 94°C'de 10 sn (denatürasyon), 54°C'de 15 sn (bağlanma), 72°C'de 15 sn (uzama) basamaklarından oluşan toplam 35 döngü ve son olarak 72°C'de 60 sn (son uzatma) basamağı ile gerçekleştirilmiştir. PCR ürünlerini ayırmak için etidyum bromür (EtBr) içeren %1,5'luk agaroz jelde (Sigma, Milano, İtalya) 8 saat boyunca 35 V akımda yürütme yapılmış ve yürütme sonunda UV ışık altında izolatların DNA fingerprintleri kaydedilmiştir. Elde edilen DNA fingerprint sonucu analiz edilerek izolatlar benzerliklerine göre gruplandırılarak rep-PCR profilleri oluşturulmuştur.

Maya izolatlarının RAPD-PCR profillerinin belirlenmesi için M13 primeri (5'-GAGGAGGGTGGCGGTTCT-3') (Tablo 8) kullanılmıştır. Bu amaçla toplam hacim 25 µL

olacak şekilde PCR tüpüne sırasıyla 12.5 µL PCR master mix (EcoTaq 2× PCR Master Mix, Eco-Tech Biotechnology, Erzurum, Turkey), 10,5 µL nükleaz içermeyen su, 1 µL primer ve 1 µL genomik DNA eklenmiştir. PCR işlemi; 98°C’de 30 sn ilk denatürasyonun ardından 94°C’de 10 sn denatürasyon, 61°C’de 15 sn primer bağlanması ve 72°C’de 15 sn uzama basamaklarından oluşan toplam 35 döngü olacak şekilde gerçekleştirilmiş, son olarak 72°C’de 1 dk ilave uzama basamağı eklenmiştir. PCR ürünleri EtBr ihtiva eden %1,5’luk agaroz jelde 8 saat boyunca 35 V akımda yürütülüp oluşan fingerprintler gruplandırılarak RAPD-PCR profilleri oluşturulmuştur (Lieckfeldt vd., 1993, Andrighetto vd., 2000, Libkind vd., 2003). ClearBand DNA Marker 100bp-Green (Eco-Tech Biotechnology, Turkey) DNA boyutlayıcısı olarak elektroforetik jelde kullanılmıştır (Şekil 5).



Şekil 5. ClearBand DNA Marker 100bp-Green fragment boyutları

16S rRNA ve 28S rRNA dizi analizi

Danelerden izole edilen bakteri izolatları elde edilen (GTG)₅ rep-PCR profillerine göre gruplandırılıp her gruptan temsili bir örnek seçilerek moleküler tanılama gerçekleştirilmiştir. 16S rRNA bölgesi 8F (5’-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3’) ve 1541 R (5’-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3’) (Tablo 8) primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. Toplam reaksiyon hacmi 50 µL olacak şekilde hazırlanmıştır. Buna göre PCR tüplerine 25 µL PCR master mix, 2’şer µL 8F ve 2 1541R primeri, 1 µL template DNA, primeri ve 20 µL nükleaz içermeyen su eklenmiştir. PCR koşulları Çırpıcı ve Çetin (2023)’te belirtildiği şekilde yapılmıştır. Buna göre 98°C’de ilk denatürasyon için 30 sn, ardından 94°C’de 10 sn, 65°C’de 15 sn ve 72°C’de 15 sn’lik 35 döngü ve son olarak 72°C’de 1 dk olacak şekilde PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR ürünlerinin görüntülenmesi için jelde 3 saat boyunca 100 V akımda yürütme yapıp UV altında görüntüleme yapılmıştır. Sekans sonuçları için the National Centre

for Biotechnology Information (NCBI) veri tabanında bulunan BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) programı kullanılmıştır.

Maya izolatları ise elde edilen RAPD-PCR profillerine göre bakterilerde olduğu gibi gruplandırılıp her gruptan temsili bir örnek seçilerek sekans işleminde EtBr içeren %1,5'luk agaroz kullanılmıştır. 28S rRNA kodlayan genin D1/D2 bölgesini çoğaltmak için NL-1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3') ve NL-4 (5'-GGTCCGTGTTTTCAAGACGG-3') (Tablo 8) primerleri kullanılmıştır (Marshall vd., 2003). 50 µL toplam reaksiyon hacmi olacak şekilde PCR işlemi gerçekleştirilmiş ve 28S rRNA genine ait D1/D2 bölgesinin dizisi BLAST programı kullanılarak tanı işlemi gerçekleştirilmiştir.

Laktik asit bakterilerinin türe spesifik primerlerle tanınması

16S rRNA PCR ile gerçekleştirilen tanılama işleminin doğruluğunun teyit edilmesi ve *Lb. kefiranofaciens* suşunun doğruluğunun tespiti amacıyla (GTG)₅ primeri ile oluşturulan rep-PCR gruplarına, türe ait spesifik primerler kullanılarak ayrı PCR işlemleri gerçekleştirilmiştir. *Lb. kefiranofaciens* suşunun varlığının tespiti için MRS agarda izole edilen tüm çubuk şeklindeki izolatlara LK1-2F ve LK1-2R (Tablo 8) primeri kullanılmıştır (Wang vd., 2018). Sekans sonucunda *Lc. lactis* ve *Lc. cremoris* suşlarının ayrımının nispeten net olmamasından dolayı spesifik *Lc. lactis* subsp *lactis* ve *Lc. lactis* subsp *cremoris* primerleri (Tablo 8) kullanılmıştır (Lu vd., 2015). Böylece *Lc. lactis* ve *Lc. cremoris* suşları net olarak belirlenmiştir. DNA izolasyonu için "Genomik DNA izolasyonu" başlığı altında belirtilen yöntem kullanılmış olup PCR karışımı "16S rRNA ve 28S rRNA dizi analizi" başlığı altında belirtilen miktarlarda hazırlanmıştır. PCR işlemlerinde LK1-2 primeri için 58°C, *Lc. lactis* subsp *lactis* primeri için 62°C ve *Lc. lactis* subsp *cremoris* primeri için 61°C'lik bağlanma sıcaklığı uygulanmıştır. Tüm PCR ürünleri EtBr içeren %1,5'luk agaroz jelde 100 V akımda 3 saat yürütülmüş ve UV ışık altında görüntülenmiştir.

Tablo 8. Çalışmada Kullanılan Primerler

Kullanım amacı	Primer	Sekans (5'-3')	Hedef Gen	Amplikon uzunluğu (bp)	Bağlanma Sıcaklığı (°C)	Kaynak
rep-PCR	(GTG) ₅	GTGGTGGTGGTGGTG	-	Değişken	54	Dertli vd. (2016)
RAPD-PCR	M13	GAGGAGGGTGGCGGTTCT	-	Değişken	61	Lieckfeldt vd. (1993) Andrighetto vd. (2000) Libkind vd. (2003)
28S rRNA PCR	NL-1	GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG	28S rRNA	650	59	Marshall vd. (2003)
	NL-4	GGTCCGTGTTTTCAAGACGG				
16S rRNA PCR	8F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	16S rRNA	1533	65	Çırpıcı ve Çetin (2023)
	1541 R	AAGGAGGTGATCCAGCCGCA				
Türe spesifik primerler	LK1-2F	GAGCGGAACCAGCAGAATCA	16S rRNA	150	58	Wang vd. (2018)
	LK1-2R	GCTGTTCATGCGAACTGCTT				
	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> F	GGTTCGTACTTGTACCGACTGGAT	16S rRNA	792	62	Lu vd. (2015)
	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> R	TGCGATACAGTGAACCTTATAGCTCC				
	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> F	GAAGATTTGTGCTTGCACCAATTTG	16S rRNA	767	61	Lu vd. (2015)
	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> R	GCGATACAGTGAACCTTATAGCTCC				

Tablo 8. Devamı

Kullanım amacı	Primer	Sekans (5'-3')	Hedef Gen	Amplikon uzunluğu (bp)	Bağlanma Sıcaklığı (°C)	Kaynak
EPS üretimi	epsA F	TAGTGACAACGGTTGTACTG	<i>epsA</i>	800	53	Low vd. (1998)
	epsA R	GATCATTATGGACTGTCAC				
	epsB F	CGTACGATTTCGTACGACCAT	<i>epsB</i>	1150	57	Dertli vd. (2016)
	epsB R	TGACCAGTGACACTTGAAGC				
	epsD/E F	TCATTTTATTCGTAAAACCTCAATTGAYGAR YTNCC	<i>p-gtf</i>	189	62	Provencher vd. (2003)
	epsD/E R	AATATTATTACGACCTSWNAYYTGC CA				
	gtf F	GAYAAWWSIAAYCCIRYIGTIC	<i>gtf</i>	660	55	Palomba vd. (2012)
	gtf R	ADRTCICCRTARTAIAYIKIG				
Virülans faktörlerini kodlayan genler	esp-F	TTGCTAATGCTAGTCCACGACC	<i>espfs</i>	933	61	Reviriego vd. (2005)
	esp-R	GCGTCAACACTTGCATTGCCGAA				
	HYLn1	ACAGAAGAGCTGCAGGAAATG	<i>hyl</i>	276	58	Vankerckhoven vd. (2004)
	HYLn2	GACTGACGTCCAAGTTTCCAA				
	gelE-F	ACCCCGTATCATTGGTTT	<i>gelE</i>	419	55	Reviriego vd. (2005)
	gelE-R	ACGCATTGCTTTTCCATC				
	cylA F	TGGATGATAGTGATAGGAAGT	<i>cylA</i>	517	55	Toğay vd. (2010)
	cylA R	TCTACAGTAAATCTTTCGTCA				
	asa11	GCACGCTATTACGAACATATGA	<i>asa1</i>	375	55	Paschoalini vd. (2023)
	asa12	AAGAAAGAACATCACCACGA				
	ace F	GAATTGAGCAAAAAGTTCAATCG	<i>ace</i>	1008	55	Martín-Platero vd. (2009)
	ace R	GTCTGTCTTTTCACTTGTTTC				
	efaAfs F	GACAGACCCTCACGAATA	<i>efaAfs</i>	705	55	Reviriego vd. (2005)
	efaAfs R	AGTTCATCATGCTGTAGTA				
	agg F	AAGAAAAAGAAGTAGACCAAC	<i>agg</i>	1553	55	Eaton ve Gasson (2001)
	agg R	AAACGGCAAGACAAGTAAATA				

Y= C or T; R= A or G; W= A or T; K= G or T; S= C or G; N= A, C, G or T; I = inosine

İzolatların Probiyotik Karakterizasyonu

Kefir danelerinden izole edilen suşların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi için; safra tuzlarına tolerans, simüle mide ortamına dayanıklılık, antibiyotik direnci, hemolitik aktivite, DNase aktivitesi, oto ve ko-aagregasyon, hidrofobisite, virülans faktör genlerinin tespiti ve bazı patajonlere karşı antagonistik aktivite testleri yapılmıştır.

Safra tuzlarına tolerans

İzole edilen suşların safra tuzlarına toleransının belirlenmesinde, %0,3, %0,5 ve %1 (w/v) oranlarında safra (ox bile, Merck, Darmstadt, Almanya) içeren ve safra içermeyen (%0) MRS, M17, GYC besiyerinden izole edilen suşlar için MRS, M17, SM broth (%0,5 maya ekstraktı ve %5 glikoz) (Gullo ve Giudici, 2006) ve Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD, Sigma Aldrich, Milano, İtalya) brothlar kullanılmıştır. Mayalar için YPD broth kullanılmasının nedeni Çetin ve Bazu Çırpıcı (2023) tarafından yapılan çalışmada mayalar için en uygun brothun YPD olduğunun görülmesidir. Her bir bakteri ve maya süspansiyonu DEN-1 dansitometre (Biosan, Riga, Letonya) ile 10^8 kob/mL konsantrasyona ayarlanmıştır. İnkübasyon 96 kuyucuklu mikro plakada yapılmış ve her bir kuyucuğa steril besiyerlerinden ilave edilip, bakteri ve maya süspansiyonları inoküle edilmiştir. Kontrol amacıyla kullanılan kuyucuklara ise inokülasyon işlemi yapılmamıştır. Plakalar 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edilip, maya ve bakteri gelişimi 600 nm'de plaka okuyucu (Epoch, BioTek, USA) ile belirlenmiştir (Vinderola ve Reinheimer, 2003, Elcioglu ve Kunduhoglu, 2014). Çalışmada kullanılan bakteri izolatlarının safra tuzlarına toleranslarının karşılaştırılması amacı ile *Lactocaseibacillus casei* ATCC 393 (*Lcb. casei* ATCC 393) ve *Lactocaseibacillus* strain Shirota (*Lcb. casei* strain Shirota), maya izolatları için ise *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 (*Sacc. boulardii* CNCM I-745) kullanılmıştır.

Safra tuzlarına tolerans sonuçları; pozitif kontrol (bakteri ve maya izolatları ile inkübe edilen ancak içinde safra tuzu bulunmayan sıvı besiyerleri) ve negatif kontrolün (içine inokülasyon yapılmayan sıvı besiyerlerinin) absorbanslarının karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir. Absorbans sonuçlarına göre, negatif kontrolden daha yüksek absorbans değerine sahip izolatlar "+", negatif kontrol ile benzer absorbans değerine sahip olanlar ise "-" olarak değerlendirilmiştir (Çetin ve Bazu Çırpıcı, 2023).

Mide ortamına dayanıklılık

İzolatların mide ortamına toleransının araştırılması için mide sıvısı simülasyonu kullanılmıştır. Bu amaçla %0,3 (w/v) pepsin (Sigma Aldrich, Milano, İtalya) ve %0,5 (w/v) NaCl içeren, HCl (Merck, Darmstadt, Almanya) ile pH 3'e ayarlanmış bir mide simülasyonu

hazırlanmıştır. Hazırlanan mide solüsyonu 0.22 mikron gözenek boyutundaki steril bir filtre (Isolab, Eschau, Almanya) ile sterilize edilmiştir. Simüle mide ortamına 10^8 kob/mL konsantrasyonundaki bakteri ve maya inoküle edilmiş ve 37°C'de 3 saat bekletilmiştir. Beklemenin ardından simüle mide ortamından seri dilüsyonlar yöntemi ile MRS, M17, GYC ve YPD agara mikrobiyolojik ekim yapılmış ve inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası sayım yapılmış ve suşların hayatta kalma yüzdesi, her suş için sindirim öncesi ve sonrası hücre sayımları karşılaştırılarak hesaplanmış ve % olarak verilmiştir (Elcioglu ve Kunduhoglu, 2014, Ispirli ve Dertli, 2017). *Lcb. casei* ATCC 393, *Lcb. casei* strain Shirota ve *Sacc. boulardii* CNCM I-745 suşları bu deney için pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

$$\%P = \left(\frac{\log NT}{\log NO} \right) \times 100$$

%P: Simüle mide ortamında canlılık

NT: 3. saatteki simüle mide ortamında bekletilen izolatın canlılığı

NO: 0. saatteki simüle mide ortamında bekletilen izolatın canlılığı

Oto ve ko-agregasyon

Kefir danelerinden izole edilen izolatların oto-agregasyon yetenekleri deneyi, Goktas vd. (2021b) tarafından yapılan metotta bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre ilgili sıvı besiyerlerinde 37°C'de geliştirilen bakteri ve maya suşları 9000 g'de 10 dk santrifüjlenmiştir. Daha sonra pellet, PBS çözeltisi ile 2 kez yıkanmış ve PBS içerisinde yaklaşık 10^7 - 10^8 kob/mL konsantrasyonuna ayarlanmıştır. Konsantrasyonu ayarlanan süspansiyon, vorteks yardımıyla homojenize edildikten sonra 37°C'de inkübe edilmiş ve 0., 2., 4., ve 24. saatlerde süspansiyonun üst kısmından dikkatli bir şekilde 200 µL sıvı alınıp plate reader cihazı (Epoch, BioTek) ile 600 nm dalga boyunda okumalar gerçekleştirilmiştir. Oto-agregasyon yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır. Formüldeki A_t 2., 4. ve 24. saatteki absorbans değerini, A_0 başlangıçtaki (0.saat) absorbans değerini ifade etmektedir. Pozitif kontrol olarak *Lcb casei* ATCC 393, *Lcb. casei* strain Shirota ve *Sacc. boulardii* CNCM I-745 suşları kullanılmıştır.

$$\text{Oto-agregasyon (\%)} = \left[1 - \frac{A_t}{A_0} \right] \times 100$$

İzolatların ko-agregasyon yeteneklerinin belirlenmesi için *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213, *S. Typhimurium* RSSK 95091 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 patojenleri kullanılmıştır. Bakteri ve maya izolatları ve patojen mikroorganizmalar oto-

agregasyon testinde anlatılan yöntem ile aynı şekilde PBS içerisinde süspansiyon edilmişlerdir. Her bir bakteri, maya ve patojenlerden ayrı ayrı 2 mL alınarak deney tüpü içerisine aktarılmış ve 30 sn boyunca vorteks ile homojenize edilmiştir. İzolatlar ve patojen mikroorganizmalar PBS içinde süspansiyon edilerek hesaplama için ayrı ayrı hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar 37°C’de 2, 4 ve 5 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonrası suşların absorbans değerleri oto-agregasyon testinde olduğu gibi okunmuştur. Ko-agregasyon yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Kos vd., 2003, Talebi vd., 2018). Formüldeki Ax ve Ay her suş ve patojenlerin ayrı ayrı absorbans değerini ifade ederken, A(x+y) izolat ve patojen mikroorganizmaların karışımlarının absorbansını ifade eder. Pozitif kontrol olarak *Lcb. casei* ATCC 393 ve *Lcb. casei* strain Shirota ve *Sacc. boulardii* CNCM I-745 suşları kullanılmıştır.

$$\text{Ko-agregasyon (\%)} = \left[\frac{(Ax+Ay)/2 - A(x+y)}{(Ax+Ay)/2} \right] \times 100$$

Hidrofobisite

Bakteri ve maya izolatlarının hidrofobisite yeteneklerinin belirlenmesi için taze kültürler oto ve ko-agregasyon deneylerinde olduğu gibi PBS içinde süspansiyon edilmişlerdir. Süspansiyonun absorbans değeri 600 nm dalga boyunda okunmuştur. Daha sonra bu süspansiyondan 3'er mL alınıp üzerine ayrı ayrı 1mL ksilen, tolüen ve n-hekzan (Merck, Darmstadt, Almanya) eklenerek vorteks yardımıyla 2 dk boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra süspansiyon, faz ayrılması oluşana kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir. Faz ayrımı gerçekleştikten sonra karışımdan 200 µL alınarak yeniden 600 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır. Hidrofobisite yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Seddik vd., 2017, Talebi vd., 2018, Shaheen vd., 2019). Formüldeki A₁ bakteri süspansiyonuna ksilen, tolüen ve n-heksan ilave edilip karıştırıldıktan sonraki absorbans değerini ifade ederken, A₀ bakteri süspansiyonuna ksilen, tolüen ve n-heksan ilave edilmeden önceki absorbans değerini ifade eder. Pozitif kontrol olarak *Lcb. casei* ATCC 393, *Lcb. casei* strain Shirota ve *Sacc. boulardii* CNCM I-745 suşları kullanılmıştır.

$$\text{Hidrofobisite (\%)} = \left[1 - \frac{A_1}{A_0} \right] \times 100$$

Hemolitik aktivite

Hemolitik aktiviteyi belirlemek için taze kültürler %5 (w/v) defibrine koyun kanı içeren Columbia agar (Chemsolute, Roskilde, Danimarka) ve %5 (w/v) defibrine koyun kanı içeren ilgili besiyerlerine (MRS, M17 ve YPD) çizilerek 37°C’de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda, kolonilerin etrafında berrak zon gösterenler β-hemoliz, parlak yeşil zon

gösterenler α -hemoliz ve kolonilerin etrafında zon oluşturmayanlar ise γ -hemoliz olarak değerlendirilmiştir (Ben Taheur vd., 2016). Bu çalışmada hemoliz analizleri için pozitif kontrol olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (β -hemolitik), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027(α -hemolitik) ve *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 (γ -hemolitik) kullanılmıştır (Çırpıcı ve Çetin, 2023).

DNase aktivitesi

İzolatların deoksiribonükleaz (DNase) enzimini üretme kapasitesini değerlendirmek için taze bakteri ve maya kültürleri DNase agar (Merck, Darmstadt, Almanya) üzerine çizilerek 37°C’de 2-3 gün inkübasyona bırakılmışlardır. Petrilerin yüzeyi 1 N HCl (Merck, Darmstadt, Almanya) ile kaplanmasından sonra bekletilmiş ve berrak zon oluşturan koloniler DNase pozitif olarak değerlendirilmiştir (Meena vd., 2022). İzolatların deoksiribonükleaz (DNase) aktivitelerini karşılaştırmak amacıyla pozitif kontrol olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 kullanılmıştır.

Safra tuzu hidrolaz aktivitesi

Genç maya ve bakteri kültürleri son konsantrasyonda 10^8 kob/mL olacak şekilde süspanse edilmişlerdir. Bu süspanسیونlardan 10 μ L alınarak Bile Esculine Agar (Condalab, Madrid, İspanya) üzerine 3 paralelli olacak şekilde damlatılmış ve 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra besiyeri üzerinde oluşan koyu kahverengi renk BSH pozitif olarak değerlendirilmiş ve oluşan bu zonların çapları ölçülmüştür. İzolatlar, ölçülen bu zon çaplarına göre düşük (≤ 10 mm), orta (11-15 mm) ve yüksek (≥ 16 mm) BSH aktiviteli olarak değerlendirilmiştir (Mathara vd., 2008). Pozitif kontrol olarak *Lcb. casei* ATCC 393, *Lcb. casei* strain Shirota ve *Sacc. boulardii* CNCM I-745 suşları kullanılmıştır.

Antibiyotik Direnci ve Antifungal Direnç

Kefir danelerinden izole edilen bakteri ve maya suşlarının antibiyotik ve antifungal direncini belirlemek için MRS, M17 ve YPD Agar kullanılmıştır. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority, EFSA) tarafından önerilen 9 farklı antibiyotik kullanılarak izolatların disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılığı belirlenmiştir. Ampisilin (25 μ g), klindamisin (10 μ g), kloramfenikol (30 μ g), eritromisin (15 μ g), kanamisin (30 μ g), tetrasiklin (30 μ g), streptomisin (10 μ g), gentamisin (10 μ g) ve vankomisin (30 μ g) antibiyotikleri bakteriler ve mayalar için, amfoterisin B (10 μ g), nistatin (100 IU), flukonazol (25 μ g), mikonazol (10 μ g), ketokonazol (10 μ g), vorikonazol (1 μ g) ve itrakonazol (50 μ g) antifungal ajanları mayalar için kullanılmıştır. Ayrıca bakteri için kullanılan tüm antibiyotikler

mayalar için de kullanılmıştır. Tüm bakteri için kullanılan antibiyotik diskleri Oxoid'den (Oxoid, Basingstoke, UK), mayalar için kullanılan antifungal diskleri ise Liofilchem'den (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Teramo, İtalya) temin edilmiştir. Her bakteri izolatının bakteriyel süspansiyonu 0,5 McFarland bulanıklık standardına, maya izolatlarının süspaniyonu ise 1,0 McFarland (DEN-1 dansimetre; Biosan, Riga, Letonya) bulanıklık standardına göre steril normal salinle hazırlanmıştır. Taze bakteri ve maya süspansiyonları steril pamuklu çubuklar kullanılarak ilgili besiyerlerine yayılmıştır. Petriler 15 dakika kurutulduktan sonra diskler agar yüzeylerine yerleştirilip, 18-24 saat 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır (Ben Taheur vd., 2016, Baran vd., 2020, Goktas vd., 2021b, Aktaş ve Erdoğan, 2022).

İnkübasyon periyodunun ardından disklerin etrafındaki inhibisyon zon çapları (varsa) ölçülerek izolatların antibiyotik ve antifungal duyarlılığı belirlenmiştir. Sonuçlar, CLSI (2020)'ye göre dirençli (15 mm'nin altında), orta derecede dirençli (16-20 mm) veya duyarlı (21 mm'nin üzerinde) olarak değerlendirilmiştir (Çırpıcı ve Çetin, 2023).

Çoklu antibiyotik direnci (MAR) indeksi a/b olarak hesaplanmıştır. a, izolatın dirençli olduğu antibiyotik sayısı ve b, analizde kullanılan toplam antibiyotik sayısıdır. (Byakika vd., 2019).

Kefir izolatlarının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi

Elde edilen maya ve bakteri izolatlarının *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213, *B. cereus* ATCC 33019 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 patajonlerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri kuyu difüzyon metodu kullanılarak belirlenmiştir. İzolatlar ilgili besiyelerinde 24 saat geliştirildikten sonra 4°C'de 12000 g'de 10 dk santrifüjlenerek hücresiz süpernatantlar (CFS) elde edilmiştir. İzolatların 4 farklı patojen üzerine antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla CFS'lere üç farklı uygulama yapılmıştır. İlk olarak besiyerlerinin bakteri ve maya gelişmesi sonucu düşen pH değerleri 0,1N NaOH (Merck, Darmstadt, Almanya) ile 7,0'a ayarlanmıştır. Bu sayede düşük pH'nın antimikrobiyal etkisi önlenmiştir. İkinci olarak, proteinaz K (0,1 mg/mL), tripsin (0,1 mg/mL) ve pepsin (0,1 mg/mL) enzimleri CFS'lere eklenerek bakteriyosin, protein ve peptit moleküllerinin antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Son olarak da CFS'ler 80°C'de 10 dk bekletilerek hidrojen peroksit gibi ısıya duyarlı antimikrobiyal maddeler elimine edilmiştir. Daha sonra patojen mikroorganizmalar 10^8 kob/mL konsantrasyonda süspanse edilmiş ve steril pamuklu çubuk ile *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213 ve *B. cereus* ATCC 33019 suşları Nutrient agara (NA, Merck, Darmstadt, Almanya) *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşu ise Brain Heart Infusion Agara (BHI Agar, Merck, Darmstadt, Almanya) ekilmiştir. Agarda kuyucuklar (çap 6 mm) açılarak her bir

kuyucuğa test edilmek istenen izolatın CFS'lerinden 100 µL ilave edilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Test edilen suşların antibakteriyel aktivitesi, her bir patojen suşunun kuyucuklar etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çaplarının ölçülmesiyle belirlenmiştir (Pieniz vd., 2014, Cui vd., 2018).

Elde edilen maya ve bakteri izolatlarının *Aspergillus niger* ATCC 16888, *Candida albicans* ATCC 90029 ve *Saccharomyces cerevisiae* ACC 24 (Atatürk Üniversitesi Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu) suşlarına karşı antifungal aktiviteleri de kuyu difüzyon metodu kullanılarak belirlenmiştir. Yoğunluğu 10^8 kob/mL olan *Aspergillus niger* ATCC 16888, *Candida albicans* ATCC 90029 ve *Saccharomyces cerevisiae* ACC 24 suşları steril pamuk çubuk ile PDA besiyerine ekilmiştir. Daha sonra kuyucuklar açılarak CFS'ler kuyucuklara eklenmiş ve oda sıcaklığında 36 saat bekletilerek zon çapları ölçülmüştür. Zon çapları değerlendirilerek izolatların antifungal aktivitesi belirlenmiştir (Purutoğlu vd., 2020).

Virülans faktör genlerin tespiti

PCR işlemi ile bakteri izolatlarının virülans faktör genlerine sahip olup olmadıkları spesifik primerler ile belirlenmiştir. Agregasyon maddesi (*asa1*), kollajen bağlayıcı protein (*ace*), hücre duvarı adezinleri (*efaAfs*), biyofilm üretimi ile ilişkili enterokokal yüzey proteini (*esp*), jelatinaz (*gelE*), sitolizin aktivatörü (*cylA*), hyaluronidaz (*hyl*) ve ökaryotik hücrelere yapışmada rol oynayan toplanma proteini (*agg*) virülans faktör genlerinin varlığı bakteri izolatlarında araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan primerler ve ürün boyutları Tablo 8'de gösterilmiştir. DNA izolasyonu ("genomik DNA izolasyonu" başlığı altında belirtildiği şekilde) yapıldıktan sonra toplam 25 µL hacimde PCR karışımı (12,5 µL master mix (EcoTaq 2× PCR Master Mix, Eco-Tech Biotechnology, Erzurum, Turkey), 1 µL template DNA, 1 µL primer ve 10,5 µL nükleaz içermeyen su) hazırlanmıştır. PCR işlemi; 98°C'de 30 s ilk denatürasyon, 94°C'de 10 sn (denatürasyon), bağlanma sıcaklığında 15 sn (bağlanma), 72°C'de 15 s (uzama) basamaklarından oluşan toplam 35 döngü ve son olarak 72°C'de 1 dk (son uzatma) basamağı ile gerçekleştirilmiştir. PCR ürünlerini ayırmak için EtBr içeren %1,5'luk agaroz jelde (Sigma Aldrich, Milano, İtalya) 100 V 3 saat boyunca akımda yürütme yapılmış ve UV ışık altında izolatların PCR ürünleri görüntülenmiştir (Eaton ve Gasson, 2001, AlKalbani vd., 2019, Paschoalini vd., 2023).

İzolatların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi

Kefir danelerinden izole edilen LAB, AAB ve mayaların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi için, farklı sıcaklık ve pH konsantrasyonlarında gelişim, glikozdan gaz oluşturma, arjinin hidrolizi, EPS üretim yeteneği özellikleri incelenmiştir.

Farklı sıcaklarda gelişimin belirlenmesi

Farklı sıcaklıklarda izolatların gelişiminin belirlenmesinde sıcaklık olarak 4, 10, 37 ve 45°C kullanılmıştır. Yapılan bu analizde 96 kuyucuklu mikro plaka kullanılmış olup, her bir kuyucuğa steril besiyerleri (MRS, M17, SM ve YPD broth) eklenmiştir. McFarland cihazı (DEN-1 dansimetre; Biosan, Riga, Letonya) ile 10^8 kob/mL konsantrasyona ayarlanan bakteri ve maya izolatları kuyucuklara inoküle edilmiş ve belirlenen sıcaklıklarda plateler ayrı ayrı inkübasyona bırakılmışlardır. 48 saatlik inkübasyon sonrası izolatların gelişimi 600 nm’de plate reader cihazı (Epoch, BioTek, USA) ile belirlenmiştir (Kostinek vd., 2007, Perricone vd., 2014, Gürkan Özlü vd., 2022).

Farklı pH’larda gelişimin belirlenmesi

Farklı pH’larda izolatların gelişimin belirlenmesinde 0,1 N HCl (Merck, Darmstadt, Almanya) ile pH değerleri 2,0, 3,0, 4,0 ve 5,0 ayarlanmıştır. pH değeri ayarlanan MRS, M17, SM ve YPD broth’lar 96 kuyucuklu platelere koyulup üzerine 10^8 kob/mL konsantrasyona ayarlanan bakteri ve maya izolatları inoküle edilmiştir. Plateler 30°C’de 48 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrası plate reader cihazı ile mikrobiyal gelişim belirlenmiştir (Perricone vd., 2014, Gürkan Özlü vd., 2022).

Glikozdan gaz oluşumu

Bakteri izolatlarının homofermentatif veya heterofermentatif olup olmadıklarını belirlemek amacıyla glukozdan gaz üretim özellikleri araştırılmıştır. Buna göre, 2 g/L dipotasyum fosfat, 20 g/L glikoz, 0,2 g/L magnezyum sülfat heptahidrat, 0,05 g/L manganez sülfat tetrahidrat, 8 g/L et ekstraktı, 10 g/L pepton, 5 g/L sodyum asetat trihidrat, 4 g/L maya ekstraktı ve 1 mL/L Tween-80 içeren modifiye sıvı besiyeri kullanılmıştır. 10^8 kob/mL konsantrasyona sahip bakteri süspansiyonu modifiye sıvı besiyerine %1 oranında inoküle edilerek 30°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon bittikten sonra sıvı besiyeri içerisinde bulunan Durham tüpü içerisinde gaz oluşumu gösteren izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Emanuel vd., 2010).

Arjinin hidrolizi

İzolatların arjinini hidrolize ederek amonyak oluşturup oluşturmadıklarının belirlenmesi amacı ile 3 g/L arjinin, 2 g/L dipotasyum fosfat, 0,2 g/L magnezyum sülfat heptahidrat, 0,05 g/L mangan sülfat tetrahidrat, 10 g/L pepton, 2 g/L sodyum sitrat, 4 g/L maya ekstraktı ve 1 mL/L Tween-80 içeren modifiye sıvı besiyeri kullanılmıştır. 10^8 kob/mL konsantrasyona sahip bakteri süspansiyonu modifiye sıvı besiyerine %1 oranında inoküle edilerek 30°C’de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon bittikten sonra sıvı besiyerinden 1mL alınıp üzerine 1 mL Nessler ayırıcı (Merck, Darmstadt, Almanya) ilave edilmiş ve rengin sarıdan turuncuya değişmesi, arginin hidrolizi için pozitif bir sonuç olarak değerlendirilirken sarı renk negatif olarak değerlendirilmiştir (Otunba vd., 2021).

İzolatların EPS üretim yeteneğinin belirlenmesi

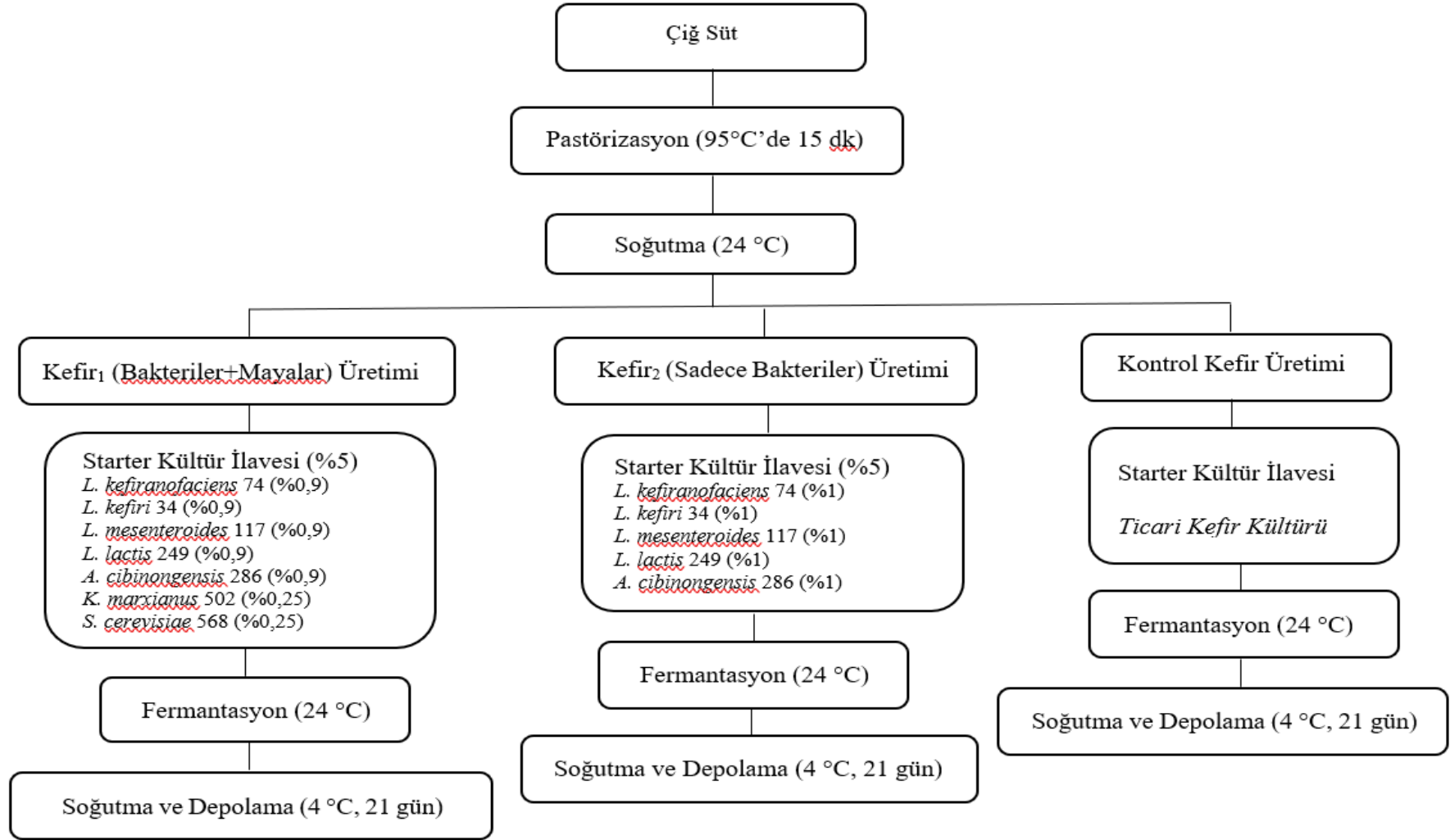
PCR işlemi ile bakteri izolatlarının EPS üretim genlerine sahip olup olmadıkları spesifik primerler ile belirlenmiştir. Bu nedenle, EPS üretiminden sorumlu olan *epsA*, *epsB*, *gtf* ve *p-gtf* genlerinin varlığı bakteri izolatlarında araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan primerler ve ürün boyutları Tablo 8’de gösterilmiştir. DNA izolasyonu “genomik DNA izolasyonu” başlığı altında belirtildiği şekilde yapıldıktan sonra toplam 25 µL hacimde PCR karışımı (12,5 µL master mix (EcoTaq 2× PCR Master Mix, Eco-Tech Biotechnology, Erzurum, Turkey), 1 µL template DNA, 1 µL primer ve 10,5 µL nükleaz içermeyen su) hazırlanmıştır. PCR işlemi; 98°C’de 30 s ilk denatürasyon, 94°C’de 10 sn (denatürasyon), bağlanma sıcaklığında 15 sn (bağlanma), 72°C’de 15 s (uzama) basamaklarından oluşan toplam 35 döngü ve son olarak 72°C’de 1 dk (son uzatma) basamağı ile gerçekleştirilmiştir. PCR ürünlerini ayırmak için EtBr içeren %1,5’luk agaroz jelde (Sigma Aldrich, Milano, İtalya) 100V 3 saat boyunca akımda yürütme yapılmış ve UV ışık altında izolatların PCR ürünleri görüntülenmiştir (Palomba vd., 2012, Dertli vd., 2016).

Elde edilen suşlarla kefir üretimi

Yapılan tüm analizler sonucunda güvenliği ve probiyotik özelliği belirlenen suşlar seçilerek kefir üretimi gerçekleştirilmiştir. Kefir üretimi için kullanılan inek sütü Atatürk Üniversitesi Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi’nden temin edilmiştir. Üretimde kullanılan ve -80°C’de saklanan suşlar MRS, M17 ve PDA agara çizilerek yeniden canlandırılmıştır. Her bakteri izolatının bakteriyel süspansiyonu 0,5 McFarland bulanıklık standardına, maya izolatlarının süspaniyonu ise 1,0 McFarland (DEN-1 dansimetre; Biosan, Riga, Letonya) bulanıklık standardına göre steril PBS ile hazırlanmıştır. Suşlar, rekonstitüe yağsız süt (RSM, pH 6,60±0,01) içerisine %2 oranında ilave edilmiş ve 24±1°C’de 18 saat

inkübe edilerek ön aktifleştirme gerçekleştirilmiştir. Daha sonra aktifleşen suşlar ikinci kez RSM içinde aynı sıcaklıkta 18 saat aktifleştirilmiştir. Temin edilen inek sütü 85°C’de 15 dk pastörize edilmiş ve pastörizasyon sonrası oda sıcaklığında bekletilerek 24°C’ye soğutulmuştur. Üretimde kullanılan inek sütünün bazı fizikokimyasal özellikleri Tablo 9’da verilmiştir. İzolatlar toplamda %5 konsantrasyonda olacak şekilde pastörize süte eklenmiş ve kavanozlara bölünmüştür. 24±1 °C’de pH yaklaşık olarak 4,6’ya geldiğinde fermantasyona son verilip (Şekil 7) buzdolabı sıcaklığında (4±1 °C’de) kefirler 21 gün boyunca depolanmıştır (Kök-Taş vd., 2013) (Şekil 8). Kefir örneklerinin mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyusal özellikleri depolamanın 1., 7., 14. ve 21. gününde incelenmiştir. Çalışmada üretilen kefirlerin üretim şeması Şekil 6’da verilmiştir.





Şekil 6. Kefir üretim şeması

Tablo 9. Üretimde Kullanılan İnek Sütünün Bazı Fizikokimyasal Özellikleri

Parametreler	Değerler
Yağ (%)	3,70
Yağsız kuru madde (%)	9,20
Yoğunluk	28,50
Protein (%)	3,20
Laktoz (%)	5,00
pH	6,73±0,01
Donma noktası (°C)	-0,583
İletkenlik (mS/cm)	4,00



Şekil 7. Kefir üretiminin fermantasyon aşaması



Şekil 8. Üretilen kefirlerin buzdolabında depolanması

Kefirlerin mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi

Üretilen kefirlerin depolama boyunca mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla, laktik basil, laktik kok, asetik asit, maya ve koliform bakteri sayımı mikroorganizmaların sayımı sırasıyla “laktik basil sayımı”, “laktik kok sayımı”, “asetik asit bakteri sayımı”, “maya-küf sayımı” başlıklarında belirtilen yöntemler ile yapılmıştır. Maya ve küf sayımı için selektif besiyeri olan Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC agar) kullanılmıştır. Koliform bakteri sayımı için Çırpıcı ve Çetin (2023) tarafından belirtilen yöntem uygulanmıştır.

Kefirlerin bazı fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi

Kefir üretiminden sonra kefirin pH’sı, titrasyon asitliği (%laktik asit cinsinden), su tutma kapasitesi, serum ayrılması, viskozitesi ve reolojik özellikleri 21 günlük depolanma süresince incelenmiştir.

pH tayini

Örneklerin pH değerleri, her ölçümden önce 4,00 ve 7,00 tamponları kullanılarak kalibrasyonu yapılmış ve pH metre (Hanna pH-211) kullanılarak belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2010).

% Asitlik tayini

Üretilen kefirlerin % asitlik değerleri titrasyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bunun için, kefir örneklerinden yaklaşık 10 g tartılarak üzerine birkaç damla %1’lik fenolfitaleyn indikatörü damlatılmış ve 0,1 N NaOH (Merck, Darmstadt, Almanya) çözeltisi ile açık pembe renk

oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Renk dönüşümü olduğunda analiz sonlandırılmış ve harcanan NaOH çözeltisi miktarı aşağıdaki formülde yerine yazılarak kefirlerin % asitlik değerleri laktik asit cinsinden hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2010).

$$\% \text{Asitlik} = \left[\frac{V \times N \times 0,09}{m} \right] \times 100$$

A: Titre edilebilir asitlik değeri (laktik asit cinsinden)

V: Harcanan NaOH miktarı, mL

F: Titrasyonda kullanılan bazın normalitesi

m: Alınan kefir örneklerinin ağırlığı (g)

Su tutma kapasitesi

10 g kefir örneği santrifüj tüpüne aktararak 4°C'de 2750 × g'de 30 dakika santrifüj (Nüve NF 200, Ankara, Türkiye) edilmiştir. Su tutma kapasitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Aktaş vd., 2023). W₁ santrifüjden sonra süpernatanın gram cinsinden ağırlığını ifade ederken, W₂ kefirin gram cinsinden ağırlığıdır.

$$\% \text{ Su tutma kapasitesi} = \left(1 - \frac{W_1}{W_2} \right) \times 100$$

Serum ayrılması

Kefir örneklerinden 25 g tartılarak 4±1°C'de 2 saat süreyle bekletilmiştir. Bekleme sonrası örnekler kaba filtre kağıdından süzülmüştür. Elde edilen süzüntü miktarı volumetrik olarak ölçülmüştür (Atamer ve Sezgin, 1986).

Viskozite

Kefir örneklerinin viskozite değerleri viskozimetre (Brookfield Viscometer Model DV II, Stoughton, Amerika) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler 3 numaralı başlık kullanılarak 20 rpm ve 50 rpm'de yapılmış ve sonuçlar "Centipoise (cP)" cinsinden verilmiştir. Kefir örneklerinin reolojik özellikleri Power Law Modeli kullanılarak 5, 10, 20, 50 ve 100 rpm'de aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir.

$$\eta = K\dot{\gamma}^{(n-1)}$$

η: Görünür viskozite

K: Kıvam katsayısı

γ: Kesme hızı

n: Akış davranış indeksi

Duyusal analiz

Kefir örneklerinin duysal analizleri Yılmaz vd. (2006) tarafından belirtilen kriterler dikkate alınarak duysal değerlendirme formu hazırlanmıştır (Tablo 10). Duyusal analiz 12 yarı-eğitimli panelist tarafından yapılmıştır. Kefir örnekleri 3 basamaklı numaralandırılarak şeffaf bardaklarda panelistlere rastgele, 2 paralelli olarak sunulmuş ve ardından her panelist numuneleri değerlendirmiştir. Örnekler arası tat karışmalarının önlenmesi amacıyla analiz sırasında panelistlere su verilmiştir. Renk ve görünümü, tadı, kokuyu ve genel kabul edilebilirliği değerlendirmek için 1-9 arasında değişen (9-8: çok iyi; 7-6: iyi; 5-4: orta; 3-2-1: istenmeyen) 9 puanlık bir hedonik ölçek kullanılmıştır. Çalışmanın duysal analizlerinin yapılabilmesi için Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakóltesi Birim Etik Kurul Başkanlığı'ndan Etik Kurul Onay Belgesi alınmıştır (Ek-1, Karar sayısı: 2023/16).

Tablo 10. Çalışmada Kullanılan Duyusal Analiz Form Örneği

İsim Soyisim:				Örnek No
Tarih:				
Tat				
Kremamsı/Süt	Normal 9-8	Az 7-6	Yüksek 5-4	Çok yüksek 3-2-1
Asitlik/Ekşilik	Normal 9-8	Az 7-6	Yüksek 5-4	Çok yüksek 3-2-1
Lezzet	Çok iyi 9-8	İyi 7-6	Orta 5-4	İstenmeyen 3-2-1
Ağızda bıraktığı his	Çok iyi 9-8	İyi 7-6	Orta 5-4	İstenmeyen 3-2-1
Koku				
Kremamsı/Süt	Normal 9-8	Az 7-6	Yüksek 5-4	Çok yüksek 3-2-1
Asitlik/Ekşilik	Normal 9-8	Az 7-6	Yüksek 5-4	Çok yüksek 3-2-1
Yapı ve Görünüm				
Renk ve Görünüş	Çok iyi 9-8	İyi 7-6	Orta 5-4	İstenmeyen 3-2-1
Viskozite	Normal 9-8	Az 7-6	Yüksek 5-4	Çok yüksek 3-2-1
Serum ayrılması	Çok az 9-8	Az 7-6	Orta 5-4	Çok fazla 3-2-1
Köpürme	Normal 9-8	Orta 7-6	Az 5-4	Çok az 3-2-1
Genel Kabul edilebilirlik	Çok iyi 9-8	İyi 7-6	Orta 5-4	İstenmeyen 3-2-1

İstatistiksel analiz

Çalışmada her analiz en az iki paralel olacak şekilde uygulanmıştır. Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel analizinde istatistik programı IBM SPSS İstatistikleri for Windows, Versiyon 26.0 kullanılmıştır. Ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler için frekans ve tanımlayıcı istatistikler kullanılmıştır. Ayrıca, kimyasal parametreler (pH ve asitlik gibi) ile kefir numuneleri arasındaki ilişkiyi ve depolama boyunca ortalama farklılıkları karşılaştırmak için OneWay ANOVA testi, anlamlı olan sonuçları $p < 0,05$ önem düzeyinde karşılaştırmak için Duncan çoklu karşılaştırma testi ile kullanılmıştır (Yegin vd., 2022). Bunun yanı sıra, üretim sonrası kefir örnekleri üzerinde çeşitli değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla korelasyon testi (Pearson Korelasyon testi) uygulanmıştır. Bu analizde elde edilen sonuçlar, korelasyon katsayıları (r) ve önem dereceleri bakımından değerlendirilmiştir (Yılmaz vd., 2006).

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Kefir Danelerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Kefir daneleri, kefiran olarak adlandırılan doğal bir polisakkarit ve bir protein matrisi içinde birlikte yaşayan, çoğunlukla LAB, mayalar ve bazen AAB olmak üzere farklı mikrobiyal cins ve türlerin benzersiz bir simbiyotik birliğidir (Garofalo vd., 2015). Türk Gıda Kodeksi 30.11.2022 tarih ve 32029 sayı, 2022/44 No'lu Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne (Anonim, 2022b) ve Codex Alimentarius (Anonim, 2022a)'a göre kefirin belli bir mikrobiyolojik kriterde olması gerekmektedir. Bu çalışmada Türkiye'nin farklı illerinden elde edilen 30 farklı kefir danesinin (27 tanesi geleneksel olarak evlerinde kefir üretimi yapanlardan, 3 tanesi aktarlarda satılan ticari kefir danesi) mikrobiyolojik sonuçları Tablo 11'de verilmiştir. Buna göre muhtemel laktik basil ve laktik kok, maya ve küf ve asetik asit bakteri sayım sonuçları log kob/g cinsinden tabloda verilmiştir.

Bu çalışmada, kefir danelerinin laktik basil, laktik kok, asetik asit ve maya-küf ortalamaları sırasıyla 8,63, 8,19, 8,21 ve 6,91 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. Purutoğlu (2018) tarafından yapılan çalışmada, kefir danesinin laktobasil, laktokok ve maya içeriği sırasıyla 7,97, 7,19 ve 7,48 log kob/g aralığında tespit edilmiş olup, bu çalışmada analiz edilen kefir danelerinde saptanan laktobasil ve laktokok sayısı bu çalışmadan daha yüksek olup maya sayısının daha düşük olduğu görülmektedir. Witthuhn vd. (2004) tarafından yapılan çalışmada ise kullanılan bazı kefir danelerinin muhtemel laktobasil, laktokok ve asetik asit bakteri sayısının 10^7 kob/g'dan düşük olduğu tespit edilirken, bazı örneklerde hiç maya bulunmadığı belirlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada kefir danelerinin laktobasil, laktokok ve maya içerikleri, sırasıyla ortalama 9,05, 8,87 ve 6,55 log kob/mL olarak bulunmuştur (Guzel-Seydim vd., 2005). Bulunan ortalama değerler bu çalışmadaki değerlerden yüksektir. Altı İrlanda kefir örneğinin mikrobiyal bileşimi incelendiğinde, fermentasyonun sonunda laktokok, laktobasil, asetik asit bakterisi ve maya sayıları sırasıyla 10^9 , 5×10^6 , 10^5 ve 10^6 kob/g içerdiği bulunmuştur (Rea vd., 1996). Garofalo vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada ise laktokok ve asetik asit bakteri sayıları bu çalışmadan düşük bulunmuş olup laktobasil ve maya sonuçları hemen hemen benzerdir. Bu çalışmada elde edilen laktobasil, laktokok ve asetik asit bakteri sonuçları Tomar vd. (2020)'nın yapmış olduğu çalışmadan daha yüksekken, Kim vd. (2015) tarafından yapılan çalışmadan daha düşüktür. Önceki başka bir çalışmada ise laktokok sayılarının ortalaması bu çalışmayla benzerken, laktobasil ve maya sayıları daha düşüktür (Kök Taş vd., 2012).

Tüm sonuçlar değerlendirilerek yapılan istatistiksel analizler sonucunda kefir danelerinin laktik basil, laktik kok, asetik asit ve maya-küf sayım sonuçları arasında istatistiksel olarak önemli

derecede fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Yani tüm kefir danelerinin farklı seviyelerde mikroorganizma içerdіđi görölmüştür (Tablo 12).



Tablo 11. Kefir Danelerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları (log kob/gr)

Örnek No	Laktik Basil	Laktik Kok	AAB	Maya-Küf
1	8,95±0,04 ^{*efg}	7,78±0,06 ⁿ	7,57±0,05 ^{ij}	8,93±0,05 ^a
2	7,74±0,11 ⁿ	8,34±0,05 ^j	8,38±0,02 ^{fg}	6,91±0,14 ^{ijk}
3	8,17±0,14 ^m	8,54±0,01 ⁱ	8,52±0,02 ^{ef}	7,43±0,08 ^{fg}
4	8,16±0,08 ^m	7,83±0,13 ^{mn}	7,84±0,15 ^h	7,51±0,04 ^f
5	7,50±0,03 ^{op}	6,38±0,03 ^t	7,51±0,29 ^j	7,25±0,03 ^{gh}
6	7,40±0,04 ^p	9,15±0,04 ^{bcd}	9,08±0,05 ^b	<2 ^o
7	7,77±0,01 ⁿ	6,90±0,06 ^s	6,93±0,06 ^k	6,64±0,16 ^{lm}
8	8,50±0,00 ^{ijkl}	7,80±0,06 ⁿ	7,89±0,08 ^h	7,59±0,08 ^f
9	7,67±0,25 ^{no}	6,37±0,24 ^t	6,54±0,18 ^l	6,63±0,02 ^{lm}
10	9,54±0,18 ^a	9,13±0,07 ^{bcd}	9,43±0,12 ^a	8,10±0,04 ^{cd}
11	8,55±0,11 ^{ijk}	8,91±0,23 ^{efg}	8,83±0,04 ^{cd}	8,10±0,11 ^{cd}
12	9,24±0,01 ^{bc}	9,23±0,03 ^{bc}	9,20±0,01 ^{ab}	7,86±0,01 ^e
13	9,63±0,07 ^a	9,86±0,06 ^a	9,31±0,05 ^{ab}	8,01±0,08 ^{de}
14	9,32±0,02 ^b	9,02±0,07 ^{def}	9,16±0,06 ^b	7,57±0,13 ^f
15	8,73±0,01 ^{ghi}	7,04±0,01 ^{rs}	6,93±0,11 ^k	6,14±0,13 ⁿ
16	9,53±0,08 ^a	9,33±0,01 ^b	9,29±0,11 ^{ab}	8,28±0,12 ^{bc}
17	9,19±0,08 ^{bcd}	9,08±0,01 ^{cde}	9,11±0,04 ^b	8,42±0,01 ^b
18	8,80±0,02 ^{fgh}	8,83±0,03 ^{fgh}	8,77±0,06 ^{cd}	6,78±0,11 ^{kl}
19	8,40±0,07 ^{kl}	8,27±0,16 ^{jk}	8,19±0,10 ^g	6,84±0,13 ^{jk}
20	9,11±0,07 ^{bcde}	8,21±0,08 ^{jk}	8,61±0,08 ^{def}	7,89±0,07 ^e
21	8,82±0,11 ^{fgh}	8,07±0,03 ^{kl}	8,21±0,04 ^g	7,02±0,07 ^{ij}
22	8,32±0,12 ^{lm}	8,00±0,11 ^{lm}	7,77±0,16 ^{hi}	7,51±0,08 ^f
23	9,05±0,13 ^{cde}	8,64±0,01 ^{hi}	8,49±0,11 ^f	7,91±0,14 ^{de}
24	8,94±0,16 ^{efg}	7,32±0,03 ^p	7,12±0,04 ^k	7,08±0,14 ^{hi}
25	8,73±0,01 ^{ghi}	8,55±0,16 ⁱ	8,48±0,09 ^f	7,82±0,08 ^e
26	9,02±0,13 ^{def}	8,72±0,01 ^{ghi}	8,86±0,18 ^c	7,24±0,06 ^{gh}
27	8,78±0,13 ^{gh}	8,68±0,11 ^{hi}	8,74±0,05 ^{cde}	<2 ^o
28	8,65±0,05 ^{hij}	6,98±0,01 ^s	7,02±0,02 ^k	6,53±0,05 ^m
29	8,31±0,03 ^{lm}	7,18±0,01 ^{pr}	7,04±0,06 ^k	6,99±0,02 ^{ij}
30	8,48±0,05 ^{ijkl}	7,54±0,10 ^o	7,50±0,06 ^j	6,48±0,08 ^m

±: Standart sapma

* Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (p<0.05)

Tablo 12. Kefir Danelerinin Mikrobiyolojik Özelliklerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması

Mikrobiyolojik Özellik	Kefir Daneleri (n=30)	Önem Derecesi
Laktik Basil	Min	7,37
	Max	9,68
	Ort±Ss	8,63±0,60
Laktik Kok	Min	6,20
	Max	9,90
	Ort±Ss	8,19±0,91
Asetik Asit Bakteri	Min	6,41
	Max	9,51
	Ort±Ss	8,21±0,85
Maya-Küf	Min	<2
	Max	8,96
	Ort±Ss	6,91±1,97

n: Numune sayısı; Max: Maksimum değer; Min: Minimum değer; Ort: Ortalama değer; Ss: Standart sapma

Kefir Danelerinden Muhtemel Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

Çalışmada izole edilen muhtemel laktik bakterilerinin izolat numaraları ve sayısı Tablo 13'te verilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen 30 kefir danesinden toplam 251 tane muhtemel LAB izole edilmiştir. Bunların 132 tanesi muhtemel laktik basil, 108 tanesi laktik koktur. Daha sonra saflaştırma sonrası yapılan mikroskopik incelemede MRS besiyerinden izole edilen suşlardan 11 tanesinin maya izolatu olduğu tespit edilmiştir. Besiyerlerinde izole edilmesi istenen hedef mikroorganizmalar bakteri olduğu için elde edilen bu maya suşları sonraki analizlerde kullanılmamıştır.

Tablo 13. Kefir Danelerinden İzole Edilen Muhtemel Laktik Asit Bakterilerinin İzolat Numarası ve Sayısı

Örnek No	İzolat No		İzolat Sayısı
	MRS	M17	
1	9, 10, 11, 12	208, 209, 210, 215, 216, 217, 218, 219	12
2	1, 2, 3, 4	201, 211, 212, 220, 221, 222, 223, 224	12
3	5, 6, 7, 8	202, 203, 204, 205, 206, 207, 213, 214	12
4	21, 22, 23, 24	226, 227	6
5	13, 14, 15, 16	225, 231	6
6	17,18, 19, 20	228, 229, 230	7
7	29, 30, 31, 32, 33	232, 233, 234	8
8	26, 27, 28	237, 238, 239,240	7
9	34,35	235, 236	4
10	44, 45, 46	249,250, 251, 252	7
11	36, 37, 38, 39, 40	241, 242, 243, 244	9
12	41, 42, 43	245, 246, 247, 248	7
13	91, 92, 93, 98	253, 254, 255	7
14	25, 85, 86, 87, 97	256, 257, 258, 259	9
15	88, 89, 90, 96	260, 261, 262, 263, 264, 265	10
16	51, 52, 53, 54	266, 267, 268, 269, 270	9
17	55, 56, 57, 58, 59	271, 272, 273	8
18	47, 48, 49, 50	274, 275, 276, 277, 278	9
19	71, 72, 73, 74	279, 280, 281, 282, 283	9
20	60, 61, 62, 63	284, 285, 286, 287, 288	9
21	64, 65, 66, 67, 68, 69, 70	289, 290, 291, 292, 293	12
22	75, 76, 77, 78	294, 295, 296, 297, 298	9
23	79, 80, 81, 94	453, 454, 455, 456, 457	9
24	82, 83, 84, 95	299, 450, 451, 452	8
25	103, 104, 105, 106	465, 466, 467, 468, 469	9
26	107, 108, 109, 110	470, 471, 472, 473, 474	9
27	99, 100, 101, 102	458, 459, 460, 461, 462, 463, 464	11
28	115	475, 476, 477	4
29	111, 112, 113, 114	478, 479, 480, 481	8
30	116, 117	482, 483, 484	5

Muhtemel Asetik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

Çalışmada izole edilen muhtemel asetik asit bakterilerinin izolat numaraları ve sayısı Tablo 14’te verilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen 30 kefir danesinden toplam 118 tane muhtemel asetik asit bakterisi izole edilmiştir. Bunların 32 tanesi basil, 60 tanesi kok, 2 tanesi ise kokobasildir. Daha sonra yapılan saflaştırma sonrası mikroskopik incelemede izole edilen suşlardan 24 tanesinin maya izolatu olduğu tespit edilmiştir. Besiyerlerinde izole edilmesi istenen hedef mikroorganizmalar bakteri olduğu için izole edilen bu maya suşları sonraki analizlerde kullanılmamıştır.

Tablo 14. Kefir Danelerinden İzole Edilen Muhtemel Asetik Asit Bakterilerinin İzolat Numarası ve Sayısı

Örnek No	İzolat No	İzolat Sayısı	Örnek No	İzolat No	İzolat Sayısı
1	304, 305, 306, 307, 308, 309, 313, 324	8	16	360, 301, 362, 363	4
2	310, 311, 312, 319, 320, 321, 322, 323	8	17	367, 368, 369, 370, 371	5
3	301, 302, 303, 314, 315, 316, 317, 318	8	18	364, 365, 366	3
4	328, 329, 330	3	19	372, 373, 374	3
5	325, 326, 327	3	20	375, 376, 377, 378, 379, 380	6
6	331, 332, 333, 334, 335	5	21	381, 382, 383, 384, 385, 386	6
7	341, 342	2	22	387, 388	2
8	338, 339, 340	3	23	392, 393, 394	3
9	336, 337	2	24	389, 390, 391	3
10	347, 349, 350	3	25	395, 396, 397, 398, 399, 650	6
11	348, 351, 352	3	26	651, 652, 653, 654	4
12	343, 344, 345, 346	4	27	655, 656, 657, 658, 659, 660	6
13	356, 357	2	28	667, 668	2
14	358, 359	2	29	661, 662	2
15	353, 354, 355	3	30	663, 664, 665, 666	4

Maya Suşlarının İzolasyonu

Çalışmada izole edilen mayaların izolat numaraları ve sayısı Tablo 15’te verilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen 30 kefir danesinden toplam 132 tane maya suşları izole edilmiştir. Saflaştırma sonrası yapılan mikroskopik inceleme sonrası izole edilen suşlardan 3 tanesi bakteri olduğu anlaşılmış ve sonraki analizlerde kullanılmamıştır. Çünkü besiyerlerinde izole edilmesi istenen hedef mikroorganizmalar maya olduğu için izole edilen bu bakteri suşları sonraki analizlerde kullanılmamıştır.

Tablo 15. Kefir Danelerinden İzole Edilen Mayaların İzolat Numarası ve Sayısı

Örnek No	İzolat No	İzolat Sayısı	Örnek No	İzolat No	İzolat Sayısı
1	506	1	16	555, 556, 557, 558, 559	5
2	504, 505	2	17	565, 566, 567, 568, 569, 570	6
3	501, 502, 503	3	18	560, 561, 562, 563, 564	5
4	509, 510, 511, 512, 513, 514	6	19	571, 572, 573, 574, 575	5
5	515, 516, 517	3	20	576, 577, 578, 579	4
6	507, 508	2	21	580, 581, 582, 583	4
7	523, 524, 525, 526, 527	5	22	595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602	8
8	518, 519	2	23	584, 585, 586, 587, 588	5
9	520, 521, 522	3	24	589, 590, 591, 592, 593, 594	6
10	540, 541, 542, 543, 544	5	25	608, 609, 610, 611, 612, 613, 614	7
11	534, 535, 536, 537, 538, 539	6	26	604, 605, 606, 607, 615	5
12	528, 529, 530, 531, 532, 533	6	27	603	1
13	552, 553, 554	3	28	621, 622, 623, 624	4
14	545, 546, 547, 548	4	29	616, 617, 618, 619, 620	5
15	549, 550, 551	3	30	625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632	8

İzole Edilen Muhtemel Laktik ve Asetik Asit Bakterilerinin Ön Değerlendirilmesi

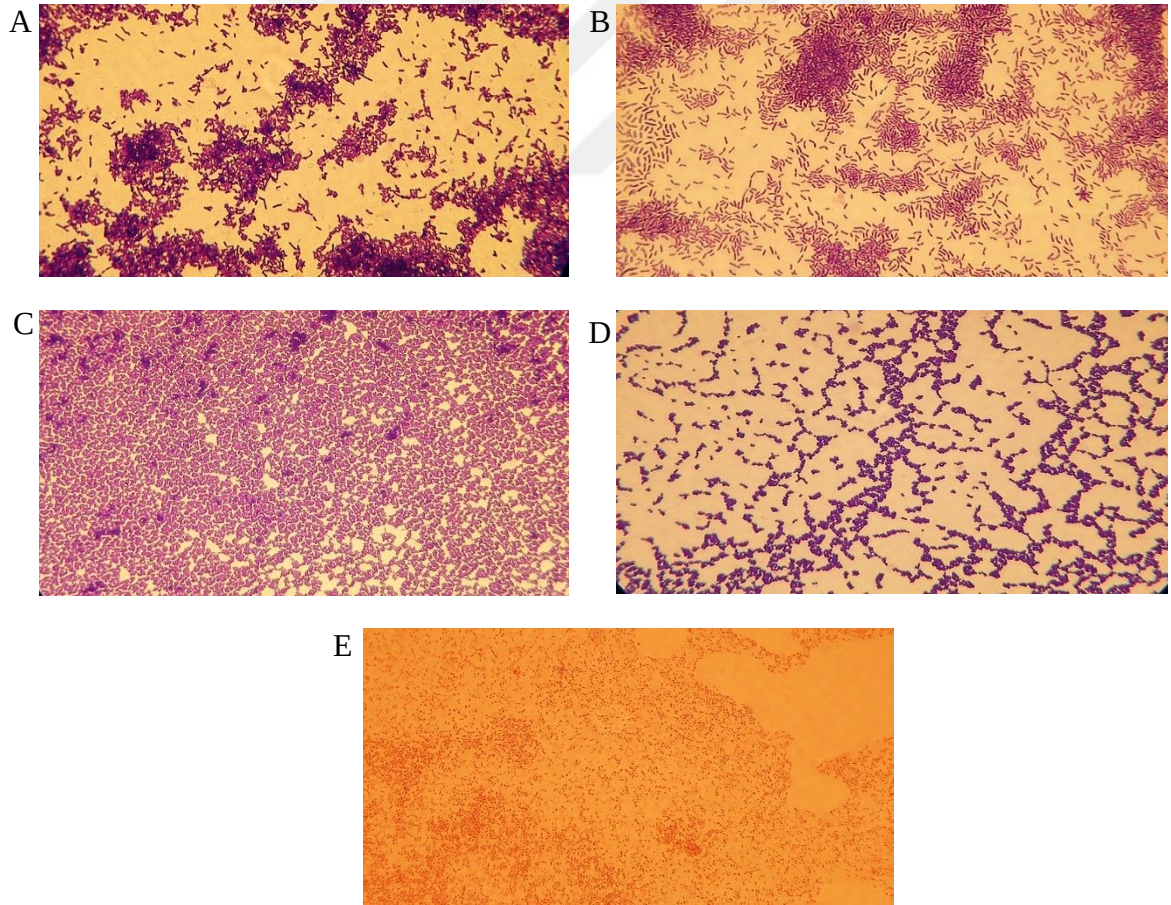
Kefir, Asya'nın Kafkas bölgesinde ortaya çıkan, hafif asidik ve alkollü fermente bir içecektir ve geleneksel olarak süte kefir danelerinin (polisakkarit matrisinde bakteri ve mayalardan oluşan bir konsorsiyum) eklenmesiyle üretilir (Zanirati vd., 2015). Genel olarak kefir danelerinde *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Acetobacter* ve *Lactococcus* bakteri türleri bulunur (Zanirati vd., 2015, Gut vd., 2019, Goktas vd., 2021b, Rahmani vd., 2022). Literatüre bakıldığında kefir danesinin bakteri mikrobiyal çeşitliliğinin fazla olmasından dolayı bu çalışmada mümkün olduğunca fazla ve farklı suş izole edilmeye çalışılmıştır. Bu nedenle 30 kefir danesinden toplam 369 tane muhtemel kefir laktik asit ve asetik asit bakterisi izole edilmiştir. İzole edilen bu suşlara Gram boyama ve katalaz testi yapılmış, mikroskopik özellikleri de dikkate alınarak izolatların seçimi yapılmıştır.

Kefir, hem gram pozitif ve katalaz negatif bakterileri (*Lactococcus* ve *Lactobacillus* gibi) (Kesmen ve Kacmaz, 2011) hem de gram negatif ve katalaz pozitif bakterileri (*Acetobacter*) (Yetiman ve Kesmen, 2015) içerdiğinden dolayı izole edilen tüm suşlar çalışmaya dahil edilmiştir. Ancak mikroskopik olarak muhtemel kefir bakterileri

incelendiğinde, laktik basil, laktik kok ve asetik asit bakterileri dışında gözlemlenen maya suşları (toplam 35 adet) sonraki çalışmalara dahil edilmemiştir. Çalışmada izole edilen muhtemel kefir laktik asit ve asetik asit bakterilerinin Gram boyama ve katalaz test sonuçları ile mikroskopik özellikleri Tablo 16, Tablo 17 ve Tablo 18’de verilmiştir.

Gram Boyama

Gram boyama mikrobiyolojideki en önemli boyama tekniklerinden biridir (Tripathi ve Sapra, 2022). Gram boyama, kristal viyolet-iodin kompleksi ve safranin karşıt boyası ile boyama gram pozitif ve gram negatif bakteriler arasında ayrım yapılmasına olanak tanır (Coico, 2006). Çalışmada elde edilen muhtemel kefir bakterileri üzerinde Gram boyama testi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre MRS, M17 ve GYC besiyerinden sırasıyla toplam 106, 74 ve 59 adet gram pozitif bakteri izole edilmiştir. MRS besiyerinden gram negatif bakteri izole edilmezken, M17 besiyerinden 60, GYC besiyerinden 35 tane gram negatif bakteri izole edilmiştir. Şekil 9’da bakteri izolatlarının Gram boyama ile mikroskop görüntüleri gösterilmiştir.

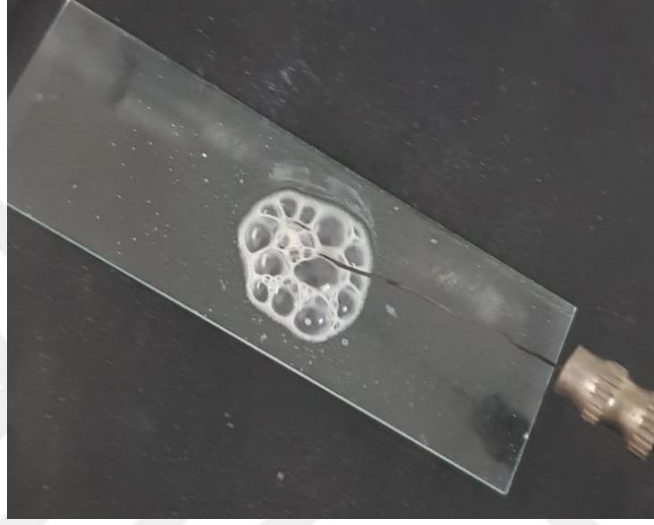


Şekil 9. Bakteri izolatlarının Gram boyama ile mikroskop görüntüleri

A: *Lentilactobacillus kefir* B: *Lactobacillus kefiranofaciens* C: *Leuconostoc mesenteroides*
D: *Lactococcus lactis* E: *Acetobacter cibinongensis*

Katalaz testi

Katalaz testi, izolatların hidrojen peroksitten oksijeni serbest bırakan katalaz enzimini üretme yeteneğini tespit etmek için kullanılır (Zamanpour vd., 2023). Çalışmada elde edilen muhtemel kefir bakterilerinin katalaz negatif sonuçları MRS, M17 ve GYC besiyerinden sırasıyla 106, 73 ve 59 olduğu bulunmuştur. MRS besiyerinden katalaz pozitif bakteri izole edilmezken, M17 besiyerinden 61, GYC besiyerinden toplam 35 bakteri katalaz pozitifdir. Katalaz pozitif özelliğe sahip *Hafnia paralvei* 221 kodlu izolatın sonucu Şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10. *Hafnia paralvei* 221 numaralı izolatın pozitif katalaz test sonucu

Tablo 16. Kefir Danelerinden Elde Edilen MRS İzolatlarının Gram, Katalaz ve Mikroskobik Özellikleri

İzolat No	Gram	Katalaz	Mikroskobik	İzolat No	Gram	Katalaz	Mikroskobik
1	+	-	Kısa Basil	46	+	-	Kok
2	+	-	Kısa Basil	47	+	-	Kısa Basil
3	+	-	Kok	48	+	-	Kısa Basil
4	+	-	Kısa Basil	49	+	-	Kısa Basil
5	+	-	Kok	50	+	-	Kısa Basil
6	+	-	Kok	51	+	-	Kısa Basil
7	+	-	Kok	52	+	-	Kısa Basil
8	+	-	Kok	53	+	-	Basil
9	+	-	Streptokok	54	+	-	Kok
10	+	-	Streptokok	55	+	-	Basil
11	+	-	Basil	56	+	-	Basil
12		Maya		57	+	-	Basil
13		Maya		58		Maya	
14	+	-	Basil	59	+	-	Basil
15	+	-	Kok	60	+	-	Basil
16	+	-	Basil	61	+	-	Basil
17	+	-	Basil	62	+	-	Kısa Basil
18	+	-	Basil	63	+	-	Basil
19	+	-	Basil	64	+	-	Kok
20	+	-	Kok	65	+	-	Kısa Basil
21	+	-	Kok	66	+	-	Basil
22	+	-	Kok	67	+	-	Kısa Basil
23	+	-	Basil	68	+	-	Kısa Basil
24	+	-	Basil	69	+	-	Kısa Basil
25	+	-	Kok	70	+	-	Basil
26	+	-	Kok	71	+	-	Kok
27	+	-	Basil	72	+	-	Kısa Basil
28		Maya		73	+	-	Kısa Basil
29	+	-	Kısa Basil	74	+	-	Uzun Basil
30	+	-	Basil	75	+	-	Kok
31	+	-	Kısa Basil	76	+	-	Kok
32		Maya		77	+	-	Basil
33		Maya		78	+	-	Uzun Basil
34	+	-	Basil	79	+	-	Kok
35	+	-	Basil	80	+	-	Kısa Basil
36	+	-	Basil	81	+	-	Kok
37	+	-	Kısa Basil	82		Maya	
38	+	-	Streptokok	83	+	-	Kısa Basil
39	+	-	Basil	84	+	-	Kok
40		Maya		85	+	-	Basil
41	+	-	Kok	86	+	-	Basil
42	+	-	Basil	87	+	-	Basil
43	+	-	Basil	88	+	-	Basil
44	+	-	Basil	89	+	-	Basil
45	+	-	Kısa Basil	90	+	-	Kısa Basil

Tablo 16. Devamı

İzolot No	Gram	Katalaz	Mikroskobik	İzolot No	Gram	Katalaz	Mikroskobik
91	+	-	Basil	105	+	-	Basil
92	+	-	Kısa Basil	106	+	-	Basil
93	+	-	Basil	107	+	-	Kok
94	+	-	Basil	108		Maya	
95	+	-	Basil	109	+	-	Kısa Basil
96	+	-	Basil	110	+	-	Basil
97	+	-	Kok	111	+	-	Uzun Basil
98	+	-	Kok	112	+	-	Uzun Basil
99	+	-	Kısa Basil	113	+	-	Kok
100	+	-	Kısa Basil	114	+	-	Basil
101	+	-	Kısa Basil	115	+	-	Kok
102	+	-	Kısa Basil	116	+	-	Kok
103		Maya		117	+	-	Kok
104		Maya					

Tablo 17. Kefir Danelerinden Elde Edilen M17 İzolatlarının Gram, Katalaz ve Mikroskobik Özellikleri

İzolot No	Gram	Katalaz	Mikroskobik	İzolot No	Gram	Katalaz	Mikroskobik
201	-	+	Kısa Basil	228	-	+	Basil
202	+	-	Kok	229	-	+	Basil
203	+	-	Kok	230	+	-	Kok
204	+	-	Kok	231	+	-	Kok
205	+	-	Kok	232	+	-	Kok
206	+	-	Kok	233	+	-	Kok
207	+	-	Kok	234	+	-	Kok
208	+	-	Kok	235	+	-	Kok
209	+	-	Kok	236	-	+	Kısa Basil
210	-	+	Basil	237	-	+	Kısa Basil
211	+	-	Kok	238	+	-	Kok
212	-	+	Kısa Basil	239	+	-	Kok
213	+	-	Kok	240	+	+	Basil
214	+	-	Kok	241	-	+	Kısa Basil
215	-	+	Basil	242	-	+	Kısa Basil
216	-	+	Basil	243	-	+	Kısa Basil
217	-	+	Basil	244	-	+	Kısa Basil
218	-	+	Basil	245	-	+	Kısa Basil
219	-	+	Basil	246	+	-	Kok
220	-	+	Kısa Basil	247	+	-	Kok
221	-	+	Kısa Basil	248	+	-	Kok
222	-	+	Kısa Basil	249	+	-	Kok
223	-	+	Kısa Basil	250	+	-	Kok
224	-	+	Kısa Basil	251	-	+	Kısa Basil
225	+	-	Kok	252	+	-	Kok
226	+	-	Kok	253	+	-	Kok
227	+	-	Kok	254	-	+	Kısa Basil

Tablo 17. Devamı

İzolot No	Gram	Katalaz	Mikroskobik	İzolot No	Gram	Katalaz	Mikroskobik
255	+	-	Kok	295	+	-	Kok
256	+	-	Kok	296	+	-	Kok
257	-	+	Kısa Basil	297	+	-	Kok
258	+	-	Kok	298	-	+	Kısa Basil
259	+	-	Kok	299	+	-	Kok
260	+	-	Kok	450	+	-	Kok
261	+	-	Kok	451	+	-	Kok
262	-	+	Kısa Basil	452	+	-	Kok
263	-	+	Kısa Basil	453	-	+	Kısa Basil
264	-	+	Basil	454	+	-	Kok
265	-	+	Kısa Basil	455	-	+	Kısa Basil
266	-	+	Kısa Basil	456	-	+	Kısa Basil
267	+	-	Kok	457	+	-	Kok
268	+	-	Kok	458	+	-	Kok
269	-	+	Kısa Basil	459	+	-	Kok
270	-	+	Kısa Basil	460	+	-	Kok
271	-	+	Basil	461	-	+	Basil
272	-	+	Kısa Basil	462	-	+	Basil
273	-	+	Kısa Basil	463	+	-	Kok
274	-	+	Kısa Basil	464	-	+	Basil
275	+	-	Kok	465	-	+	Basil
276	-	+	Kısa Basil	466	+	-	Kok
277	-	+	Kısa Basil	467	+	-	Kok
278	-	+	Kısa Basil	468	+	-	Kok
279	+	-	Kok	469	+	-	Kok
280	+	-	Kok	470	-	+	Kısa Basil
281	+	-	Kok	471	-	+	Kısa Basil
282	-	+	Kısa Basil	472	-	+	Kısa Basil
283	+	-	Kok	473	-	+	Kısa Basil
284	-	+	Kısa Basil	474	-	+	Basil
285	-	+	Kısa Basil	475	+	-	Kok
286	-	+	Basil	476	+	-	Kok
287	-	+	Kısa Basil	477	+	-	Kok
288	+	-	Kok	478	+	-	Kok
289	+	-	Kok	479	+	-	Kok
290	-	+	Kısa Basil	480	+	-	Kok
291	-	+	Kısa Basil	481	+	-	Kok
292	+	-	Kok	482	+	-	Kok
293	+	-	Kok	483	+	-	Kok
294	+	-	Kok	484	+	-	Kok

Tablo 18. Kefir Danelerinden Elde Edilen GYC İzolatlarının Gram, Katalaz ve Mikroskobik Özellikleri

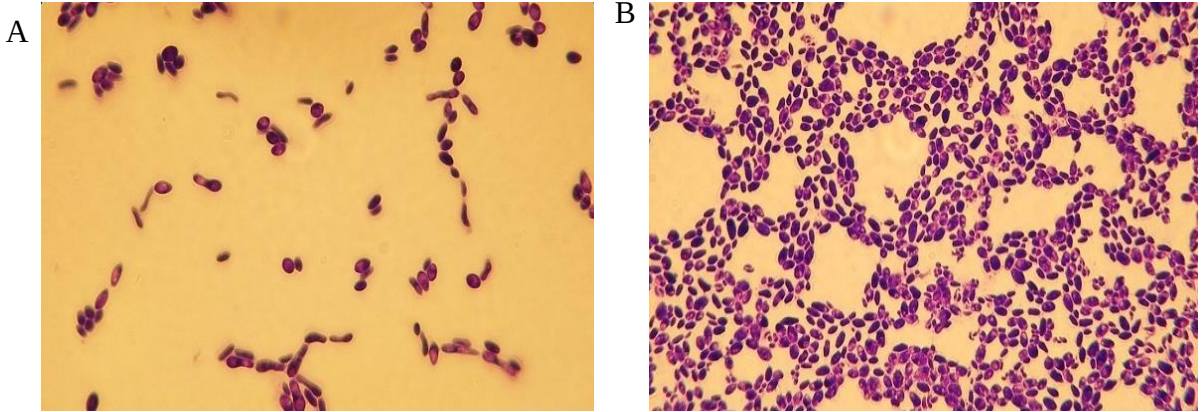
İzolat No	Gram	Katalaz	Mikroskobik	İzolat No	Gram	Katalaz	Mikroskobik
301	+	-	Kok	347	-	+	Basil
302	+	-	Kok	348	-	+	Basil
303	+	-	Kok	349	-	+	Basil
304	+	-	Kok	350	+	-	Kok
305	+	-	Kok	351	-	+	Basil
306	+	-	Kok	352	-	+	Basil
307	-	+	Basil	353	-	+	Basil
308	+	-	Kok	354	+	-	Kok
309	-	+	Basil	355	-	+	Basil
310	+	-	Kok	356		Maya	
311	+	-	Kok	357	+	-	Kok
312	+	-	Kok	358	+	-	Kok
313	-	+	Basil	359		Maya	
314		Maya		360	-	+	Basil
315		Maya		361	-	+	Basil
316		Maya		362	+	-	Kok
317	-	+	Basil	363		Maya	
318		Maya		364	-	+	+
319	-	+	Basil	365		Maya	
320	+	-	Kok	366	+	-	Kok
321	-	+	Basil	367	+	-	Kok
322	-	+	Basil	368	-	+	Basil
323	+	-	Kok	369		Maya	
324	+	-		370	+	-	Kok
325		Maya		371		Maya	
326		Maya		372	+	-	Kok
327	-	+	Kokobasil	373	+	-	Kok
328		Maya		374	+	-	Kok
329	+	-	Kok	375	+	-	Kok
330	+	-	Kok	376	+	-	Kok
331	-	+	Basil	377	-	+	Basil
332	-	+	Basil	378	+	-	Kok
333	-	+	Kokobasil	379	+	-	Kok
334	-	+	Basil	380	-	+	Basil
335	+	-	Kok	381	+	-	Kok
336		Maya		382		Maya	
337	+	-	Kok	383	+	-	Kok
338		Maya		384	+	-	Kok
339	+	-	Kok	385	+	-	Kok
340		Maya		386		Maya	
341		Maya		387	+	-	Kok
342	+	-	Kok	388	+	-	Kok
343	-	+	Basil	389		Maya	
344	-	+	Basil	390	+	-	Kok
345	+	-	Kok	391	+	-	Kok
346	-	+	Basil	392	+	-	Kok

Tablo 18. Devamı

İzolat No	Gram	Katalaz	Mikroskobik	İzolat No	Gram	Katalaz	Mikroskobik
393	-	+	Basil	656	-	+	Basil
394	+	-	Kok	657	+	-	Kok
395		Maya		658	+	-	Kok
396		Maya		659	-	+	Basil
397		Maya		660	-	+	Basil
398	+	-	Kok	661	+	-	Kok
399	+	-	Kok	662	+	-	Kok
650	+	-	Kok	663	+	-	Kok
651	-	+	Basil	664	+	-	Kok
652		Maya		665	+	-	Kok
653	+	-	Kok	666	+	-	Kok
654	+	-	Kok	667	+	-	Kok
655	-	+	Basil	668	+	-	Kok

İzole Edilen Maya Suşlarının Ön Değerlendirilmesi

Kefirde maya türleri arasında genellikle *Kluyveromyces*, *Kazachstania*, *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Candida*, *Lachancea*, *Pichia* ve *Torulaspora* cinslerinin bulunduğu görülmektedir (Zanirati vd., 2015, Gut vd., 2019, Goktas vd., 2021b, Rahmani vd., 2022). Kefir danesinin maya mikrobiyal çeşitliliğinin de literatüre bakıldığında fazla olmasından dolayı bu çalışmada mümkün olduğunca farklı ve fazla suş izole edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla 30 kefir danesinden toplam 129 tane maya izole edilmiştir. Şekil 11’de maya izolatlarının basit boyama ile mikroskop görüntüleri verilmiştir.

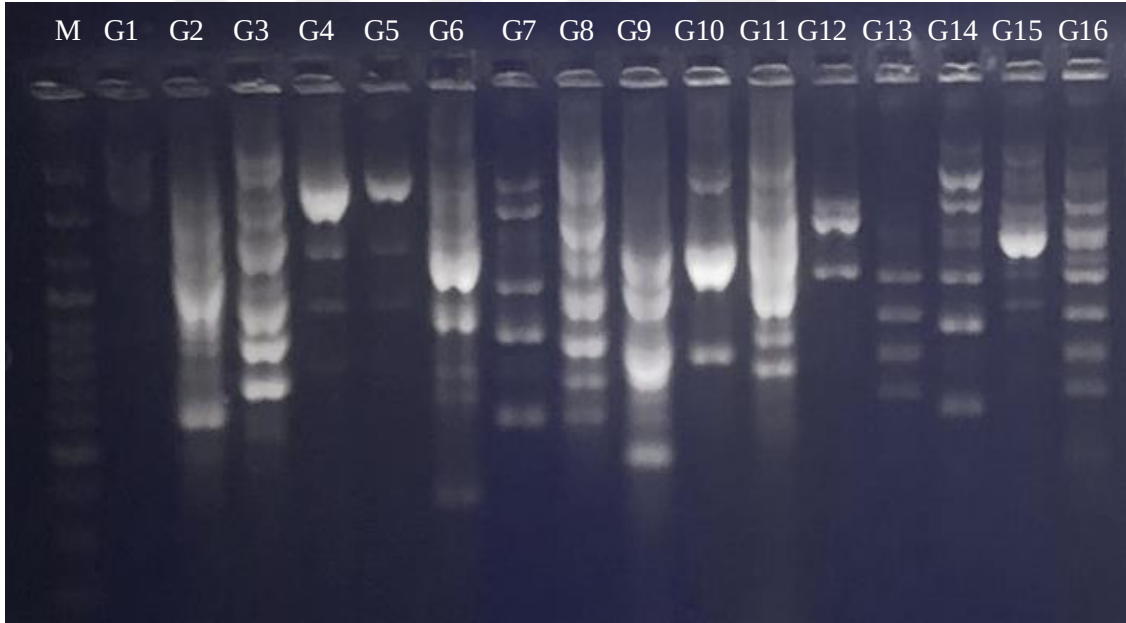


Şekil 11. Maya izolatlarının basit boyama görüntüleri

A: *Saccharomyces cerevisiae* B: *Kluyveromyces marxianus*

Muhtemel Laktik ve Asetik Asit Bakterilerinin Moleküler Olarak Tanınması

Kefir danelerinde bulunan ve kefir fermantasyonundan sorumlu bakteri ve maya mikrobiyotasının metabolitlerinden kaynaklanabilecek potansiyel sağlık yararları nedeniyle kefire yönelik artan bir tüketici ilgisi vardır. Bu nedenle, kefir danesinin mikrobiyotasının tanımlanması hem kefirin fermantasyon özelliklerini hem de bu mikrobiyotanın kefirin sağlık yararları açısından potansiyel rollerini anlamak için önemli bir konudur (Purutoğlu vd., 2020). Belli primerin suş bazında ayrımını sağlayabilen uygulama, tekrarlanan palindromlara dayalı rep-PCR'dır. Yapılan çalışmada kefir danesinden izole edilen bakteri suşlarının tanımlanması için PCR yöntemi kullanılmıştır. İzolatların genomik DNA izolasyonundan sonra (GTG)₅ primeri ile rep-PCR yapılmış ve DNA parmak izlerine göre gruplandırılmıştır. Daha sonra her gruptan temsili izolatlar seçilmiş ve 16S-rRNA PCR yöntemi kullanılarak tanımlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Buna göre MRS izolatlarından toplamda 30 farklı fingerprint, M17 izolatlarından 21 ve GYC besiyerinden 18 farklı grup elde edilmiştir. Çalışmada DNA fingerprintlerine göre yapılan gruplandırmaların bir kısmı Şekil 12'de verilmiştir.

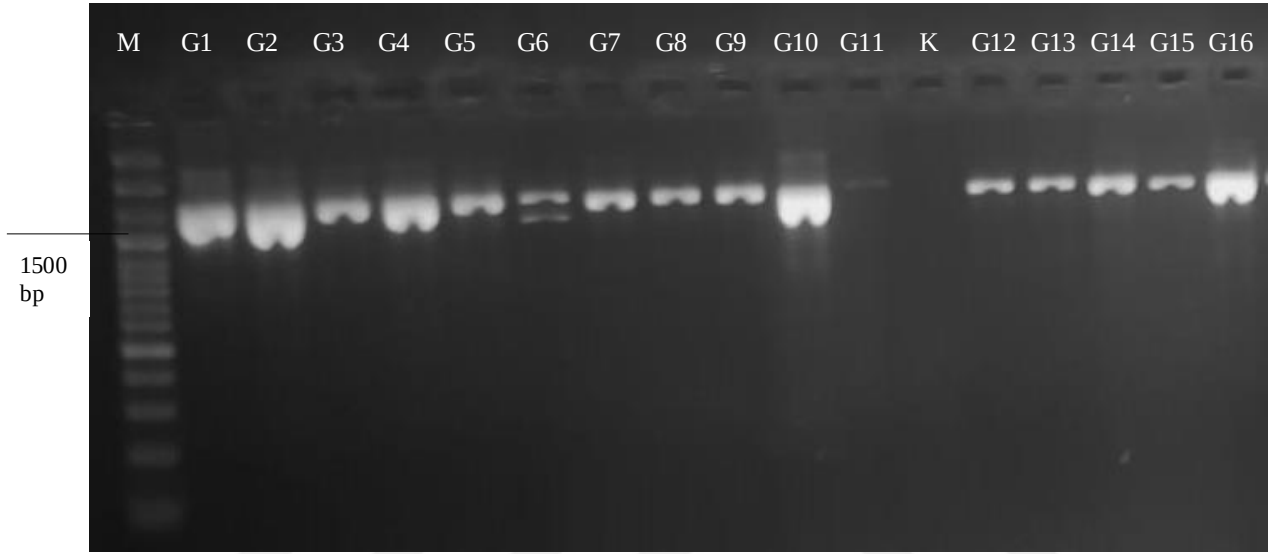


Şekil 12. Kefir danesi bakteri izolatlarının (GTG)₅ rep-PCR profillerinin gruplandırılmasının DNA parmak izi görüntüleri (M: Marker; G: Grup)

Sekans sonuçlarının doğruluğunu kontrol etmek ve *Lc. lactis* ve *Lc. cremoris* türlerine ait PCR sonuçlarında ayrımın net olmamasından ötürü ilgili spesifik primerler ile yeniden PCR işlemi yapılmıştır. Buna göre spesifik primere ait gruplarda bulunan tüm izolatlara *Lb. kefiranofaciens* (LK1-2F ve LK1-2R), *Lc. lactis* ve *Lc. cremoris* türlerine ait spesifik primerlerle PCR işlemi yapılmıştır.

Muhtemel Laktik ve Asetik Asit Bakterilerinin 16S-rRNA PCR ile Tanılanması

Muhtemel kefir danesi bakterilerinin oluşturduğu her bir gruptan temsili izolatlar seçildikten sonra 16S-rRNA bölgelerinin 8F ve 1541R primerleri ile ampilifikasyonu için PCR işlemi yapılmıştır. Şekil 13’de grupların 8F ve 1541R primerleri kullanılarak elde edilen 16S-rRNA ampliconlarının jel görüntüsü verilmiştir. DNA sekanslama işlemlerinin sonrasında grupların genetik tanı sonuçları besiyeri çeşitlerine göre Tablo 19, Tablo 20 ve Tablo 21’de verilmiştir.



Şekil 13. Kefir danesi bakteri izolatlarının 16S-rRNA geninin ampilifikasyonunu gösteren jel görüntüsü (M: Marker; G: Grup; K: Negatif kontrol)

Tablo 19. Kefir Danelerinden Elde Edilen MRS İzolatlarının 16S-rRNA PCR ile Tanı Sonuçları

Gruplar	İzolat No*	16S-rRNA tanı sonucu	Benzerlik Oranı (%)	Sekans ID
1	1, 2, 4, 29, 45, 52, 65, 67, 69, 72, <u>73</u> , 80, 82, 83, 92	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	99,72	MT645512.1
2	<u>3</u> , 21	<i>Enterococcus faecalis</i>	100	MT611694.1
3	<u>5</u> , <u>6</u> , 7, 8, 22, 25, 41, 64, 79, <u>81</u>	<i>Lactococcus lactis</i>	100	MT645510.1
4	<u>9</u> , <u>10</u>	<i>Streptococcus vestibularis</i>	99,79	MT597602.1
5	11, 53, <u>55</u> , 56	<i>Lentilactobacillus kefir</i>	99,52	MT613704.1
6	14, 16, 17, 18, 19, 23, 24, 30, <u>34</u> , 35, 43, <u>44</u> , 57, 59, 60, 61, 66, 70, 77, <u>85</u> , 88, 91, 95, 105, 110, <u>114</u>	<i>Lentilactobacillus kefir</i>	100	MT613704.1
7	<u>15</u>	<i>Lactococcus lactis</i>	100	MT645510.1
8	<u>20</u>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	100	MT597785.1
9	<u>26</u>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	100	MT597785.1
10	<u>27</u>	<i>Lentilactobacillus kefir</i>	100	MT613704.1
11	<u>31</u>	<i>Lentilactobacillus diolivorans</i>	99,72	MT045923.1
12	36, 39, <u>42</u>	<i>Lentilactobacillus kefir</i>	99,43	MT613704.1
13	37, 47, 48, <u>49</u>	<i>Schleiferilactobacillus harbinensis</i>	100	MT573101.1
14	<u>38</u>	<i>Streptococcus vestibularis</i>	99,78	MT597602.1
15	46, 97, <u>98</u>	<i>Lactococcus lactis</i>	99,44	MT645510.1
16	50, 100, 101, <u>102</u>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	99,17	OR771406.1
17	<u>51</u>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	99,61	MT645512.1
18	<u>54</u>	<i>Lactococcus lactis</i>	100	MT645510.1
19	62, <u>90</u>	<i>Lentilactobacillus diolivorans</i>	99,72	MT045923.1
20	63, <u>86</u> , <u>87</u> , 93, 94, 96, <u>106</u>	<i>Lentilactobacillus kefir</i>	100	MT613704.1
21	<u>68</u>	<i>Schleiferilactobacillus harbinensis</i>	99,21	MT573104.1
22	<u>71</u>	<i>Enterococcus faecium</i>	100	OR397765.1

*Sekans işlemine gönderilen temsili izolatlar altı çizili olarak gösterilmiştir.

Tablo 19. Devamı

Gruplar	İzolat No*	16S-rRNA tanı sonucu	Benzerlik Oranı (%)	Sekans ID
23	<u>74</u>	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>	97,44	MT473698.1
24	75, <u>76</u> , 84, 107	<i>Lactococcus lactis</i>	100	CP138309.1
25	<u>78</u>	<i>Lactobacillus helveticus</i>	99,47	MT545086.1
26	<u>89</u>	<i>Lentilactobacillus kefir</i>	99,72	MT645512.1
27	<u>99</u>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	99,64	OR758766.1
28	<u>109</u>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	100	MT645512.1
29	<u>111</u> , <u>112</u>	<i>Lentilactobacillus parabuchneri</i>	100	MT613633.1
30	113, 115, 116, <u>117</u>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	100	MT597785.1

*Sekans işlemine gönderilen temsili izolatlar altı çizili olarak gösterilmiştir.

Tablo 20. Kefir Danelerinden Elde Edilen M17 İzolatlarının 16S-rRNA PCR ile Tanı Sonuçları

Gruplar	İzolat No*	16S-rRNA tanı sonucu	Benzerlik Oranı (%)	Sekans ID
1	<u>201</u> , 212, 220, <u>221</u> , 222, <u>223</u> , 224, 236, 237, 241, 242, 243, 244, 245, 254, 257, 262, 263, 265, 266, 269, 270, 272, 273, 274, 276, 277, 278, 282, 284, 285, 287, 290, 291, 298, 453, 455, 456, 470, 471, 472, 473	<i>Hafnia paralvei</i>	99,78	MT470952.1
2	<u>202</u> , 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 213, 214, 225, 226, 227, 232, 233, 238, 239, 246, 247, <u>249</u> , 250, 252, 253, 255, 256, 258, 259, 260, 261, 267, 275, 280, 281, 283, 288, 289, 294, 296, 297, 458, 459, 463, 475, 476, 477, 478, 479, 482, 483	<i>Lactococcus lactis</i>	100	MT645510.1

*Sekans işlemine gönderilen temsili izolatlar altı çizili olarak gösterilmiştir.

Tablo 20. Devamı

Gruplar	İzolat No*	16S-rRNA tanı sonucu	Benzerlik Oranı (%)	Sekans ID
3	<u>210</u> , 216, 217, 461, 462	<i>Pseudomonas fragi</i>	98,50	MT176180.1
4	<u>211</u> , 231, 293, 460	<i>Enterococcus faecalis</i>	100	MT611694.1
5	<u>215</u> , 218, 219	<i>Pseudomonas psychrophila</i>	99,78	MF565388.1
6	<u>228</u>	<i>Citrobacter freundii</i>	99,71	CP055247.1
7	<u>229</u>	<i>Pseudomonas brenneri</i>	98,93	MT631985.1
8	<u>230</u>	<i>Lactococcus lactis</i>	100	MN229540.1
9	<u>234</u> , 235, 248	<i>Enterococcus faecium</i>	99,75	OR792206.1
10	<u>240</u>	<i>Bacillus pumilus</i>	100	MT611433.1
11	<u>251</u>	<i>Hafnia paralvei</i>	97,74	MT470952.1
12	<u>264</u>	<i>Pseudomonas psychrophila</i>	98,78	MF565398.1
13	<u>268</u>	<i>Lactococcus lactis</i>	98,72	MT645510.1
14	<u>271</u>	<i>Pseudomonas brenneri</i>	100	MT631985.1
15	279, 292, 299, 450, 451, 452, <u>454</u> , 457, 466, 467, 468	<i>Lactococcus lactis</i>	100	MN229540.1
16	<u>286</u>	<i>Acetobacter cibinongensis</i>	98,72	MH285270.1
17	<u>295</u>	<i>Enterococcus durans</i>	100	MT545074.1
18	<u>464</u> , 465	<i>Pseudomonas brenneri</i>	98,64	MT631985.1
19	<u>469</u>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	100	MT473377.1
20	<u>474</u>	<i>Pseudomonas psychrophila</i>	100	MF565388.1
21	<u>480</u> , 481, 484	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	99,69	MT597785.1

*Sekans işlemine gönderilen temsili izolatlar altı çizili olarak gösterilmiştir.

Tablo 21. Kefir Danelerinden Elde Edilen GYC İzolatlarının 16S-rRNA PCR ile Tanı Sonuçları

Gruplar	İzolat No*	16S-rRNA tanı sonucu	Benzerlik Oranı (%)	Sekans ID
1	301, <u>302</u> , 303, 304, 305, 306, 308, 310	<i>Lactococcus lactis</i>	99,44	MT645510.1
2	<u>307</u>	<i>Pseudomonas lundensis</i>	96,76	MN746219.1
3	<u>309</u> , 313, 317, 319, 321, 322, 324, 331, 343, 344, 346, 347, 348, <u>349</u> , 351, 352, 353, 355, 360, 364, 368, 377, 380, <u>393</u> , 651, 655, 656, 659, 660	<i>Hafnia paralvei</i>	99,74	MT470952.1
4	311, <u>312</u> , 320, 323, 657, 658	<i>Enterococcus faecalis</i>	100	MT611694.1
5	<u>327</u>	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	100	MN826149.1
6	<u>329</u> , 330, 339, 358, 362, 375, 376, 379	<i>Lactococcus lactis</i>	100	MT645510.1
7	<u>332</u>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	99,79	MT549687.1
8	<u>333</u>	<i>Acinetobacter guillouiae</i>	98,73	MT322954.1
9	<u>334</u>	<i>Citrobacter freundii</i>	98,64	CP055247.1
10	<u>335</u>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	100	MT579945.1
11	337, <u>345</u> , 370	<i>Lactococcus lactis</i>	100	FJ861118.1
12	<u>342</u>	<i>Enterococcus faecium</i>	100	OR789634.1
13	350, <u>354</u> , 357, 366, 367, 373, 378, 381, 383, 384, 387, 388, 391, 392, 394, 398, 399, 650, 653, 654, 662, 663, 665, 666, 667, 668	<i>Lactococcus lactis</i>	100	MT645510.1
14	361	<i>Hafnia paralvei</i>	99,74	MT471022.1
15	<u>372</u> , 374	<i>Enterococcus faecium</i>	98,07	MN883896.1
16	<u>385</u>	<i>Lactococcus lactis</i>	98,47	MT645510.1
17	<u>390</u>	<i>Enterococcus faecium</i>	100	OR792206.1
18	<u>661</u> , 664	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	100	MT597785.1

*Sekans işlemine gönderilen temsili izolatlar altı çizili olarak gösterilmiştir.

16S-rRNA sekans sonuçlarına bakıldığında, farklı türlere ait farklı suşların varlığı değişkenlik göstermiştir. Kefir danelerinde *Lc. lactis* ve *Hafnia paralvei* (*H. paralvei*) suşlarının en çok izole edilen baskın suşlar olduğu görülmüş, bunu *Lentilactobacillus kefir* (*Len. kefir*) ve *Lacticaseibacillus paracasei* (*Lcb. paracasei*) takip etmiştir. Önceki çalışmalar da bizim bulgularımızla uyumlu olarak kefirde *Lc. lactis*'in baskın varlığını ortaya çıkarmıştır (Simova vd., 2002, Yüksekdağ vd., 2004, Purutoğlu vd., 2020). Ancak *H. paralvei* suşunun kefir danesinden ilk kez Çırpıcı ve Çetin (2023) tarafından yapılan çalışmada izole edildiği görülmektedir. *Citrobacter freundii* (*C. freundii*) ve *Klebsiella oxytoca* (*K. oxytoca*) suşları da kefir danesinden ilk kez Çırpıcı ve Çetin (2023) tarafından yapılan aynı çalışmada izole edilmiştir. Bu çalışmada ayrıca *Lb. kefiranofaciens*, *Lb. helveticus*, *Lentilactobacillus parabuchneri* (*Len. parabuchneri*), *Lentilactobacillus diolivorans* (*Len. diolivorans*), *Schleiferilactobacillus harbinensis* (*Sch. harbinensis*), *Leu. mesenteroides*, *Acetobacter cibinongensis* (*A. cibinongensis*), *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus vestibularis* (*S. vestibularis*), *Acinetobacter johnsonii* (*Ac. johnsonii*), *Acinetobacter guillouiae* (*Ac. guillouiae*), *Pseudomonas fragi* (*P. fragi*), *Pseudomonas brenneri* (*P. brenneri*), *Pseudomonas psychrophila* (*P. psychrophila*), *Pseudomonas lundensis* (*P. lundensis*), *Bacillus pumilus* (*B. pumilus*), *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) ve *Enterococcus durans* (*E. durans*) suşları izole edilmiştir. Çalışmaya bakıldığında, GYC besiyerinden hiç asetik asit bakterisi izole edilemeyip elde edilen *A. cibinongensis* suşu da M17 besiyerinden elde edilmiştir. Alraddadi vd. (2023) kefir danesinden *Acetobacter* gibi asetik asit bakterilerinin bazen bulunduğunu belirtmiştir. GYC besiyerinden laktik asit bakterilerinin baskın olarak izole edildiği görülmektedir. Bu çalışma, Türkiye'nin farklı bölgelerinden temin edilen kefir danelerinin farklı izolatlarının sayısının oldukça fazla olduğunu ve çeşitli mikrobiyotaya sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Kefir popülasyonu üzerinde yapılan farklı çalışmalarda *Lb. kefiranofaciens*, *Len. kefir*, *Lc. lactis*, *Lcb. paracasei*, *Lb. helveticus*, *Len. parabuchneri*, *Len. diolivorans*, *Leu. mesenteroides*, *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* türleri tespit edilmiştir (Farnworth, 2005, Sarkar, 2008, Guzel-Seydim vd., 2011, Pogacic vd., 2013, Prado vd., 2015, Bourrie vd., 2016, Dertli ve Çon, 2017, Yilmaz vd., 2022). Purutoğlu vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada, Türkiye'den temin edilen 6 farklı kefir danesinden *Len. kefir*, *Lb. kefiranofaciens*, *Lc. lactis*, *Lcb. paracasei* ve *E. durans* suşları izole edilmiştir. İtalya'nın farklı bölgelerinden elde edilen 6 farklı kefir danesinden ve Türkiye'nin farklı bölgelerinden temin edilen 4 farklı kefir danesinden yapılan çalışmalarda, bu çalışmada bulunan suşlardan *Len. kefir* ve *Lb. kefiranofaciens* izole edilmiştir (Garrote vd., 2001, Dertli vd., 2016). Yapılan başka bir

çalışmada *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *Lc. lactis* ve *Leu. mesenteroides* suşları izole edilmiştir (Witthuhn vd., 2005a). Evlerinden geleneksel olarak kefir mayalayan iki farklı aileden alınan dört kefir danesinden yapılan çalışmada *Len. kefir*, *Lc. lactis* ve *Leu. mesenteroides* izole edilmiştir (Garrote vd., 2001). On farklı bölgeden temin edilen 10 farklı kefir danesinde bulunan yaygın mikrobiyal popülasyonun dağılım sıklığı, kültüre bağımlı yöntemler ve 16S rDNA'nın kısmi dizi analizi kullanılarak belirlendiği, bir çalışmada *Lb. helveticus*, *Len. kefir* ve *Lcb. paracasei* izole edilmiştir (Miguel vd., 2010). Literatürle karşılaştırıldığında bu çalışmada elde edilen sonuçların uyumlu olduğu görülmektedir.

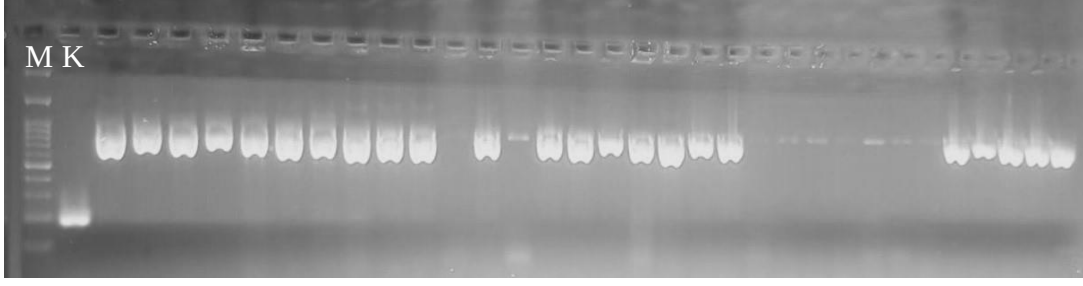
Çalışmaya bakıldığında literatürde daha önce izole edilemeyen *Sch. harbinensis*, *S. vestibularis*, *P. fragi*, *P. brenneri*, *P. psychrophila*, *P. lundensis* ve *B. pumilus* suşları kefir danesinden ilk kez izole edilmiş olup literatüre katkısı açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

Laktik Asit Bakterilerinin Türe Spesifik Primerlerle Tanılanması

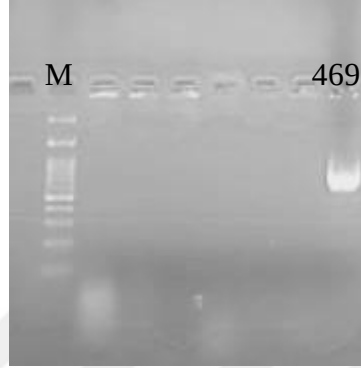
16S-rRNA PCR ile gerçekleştirilen tanılama işleminin doğrulunun teyit edilmesi ve *Lb. kefiranofaciens* suşunun doğruluğunun tespiti amacıyla LK1-2F ve LK1-2R primerleri kullanılmıştır. Sekans sonucunda *Lc. lactis* ve *Lc. cremoris* suşlarının ayrımının nispeten net olmamasından dolayı spesifik *Lc. lactis* subsp *lactis* ve *Lc. lactis* subsp *cremoris* suşları için özel primerler kullanılmıştır. Böylece *Lc. lactis* ve *Lc. cremoris* suşları net olarak tespit edilmiştir. Yapılan PCR işlemleri sonucunda 74 numaralı suşun *Lb. kefiranofaciens* olduğu belirlenmiştir (Şekil 14). MRS, M17 ve GYC besiyerlerinden izole edilen ve *Lc. lactis* ve/veya *Lc. lactis* subsp *cremoris* olarak gruplandırılan suşların hepsine (128 adet) ilk önce *Lc. lactis* subsp *lactis* primeri kullanılmış ve 469 numaralı suş hariç hepsi *Lc. lactis* olarak bulunmuştur (Şekil 15). Daha sonra 469 numaralı suşa *Lc. lactis* subsp *cremoris* primeri ile PCR yapılmış ve *Lc. lactis* subsp *cremoris* suşu olduğu tespit edilmiştir (Şekil 16).



Şekil 14. *Lb. kefiranofaciens* izolatının spesifik LK1-2F ve LK1-2R primerleri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü (M: Marker, K: Pozitif Kontrol)



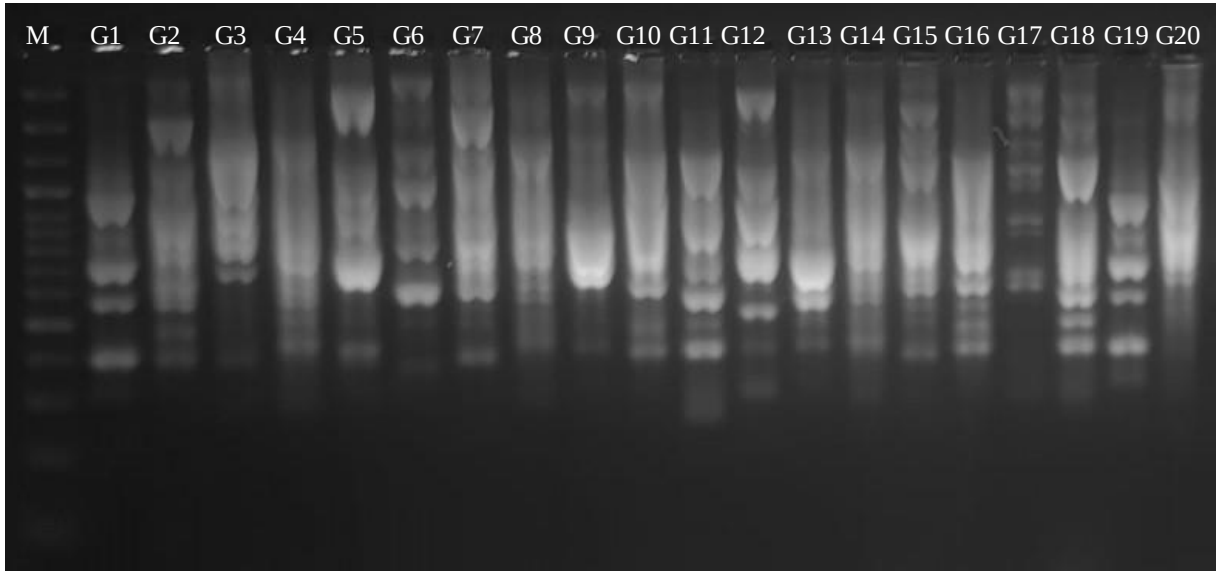
Şekil 15. *Lc. lactis* subsp *lactis* spesifik primeri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü (M: Marker, K: Kontrol)



Şekil 16. *Lc. lactis* subsp *cremoris* primeri ile gerçekleştirilen PCR jel görüntüsü (M: Marker)

Maya İzolatlarının Moleküler Olarak Tanınması

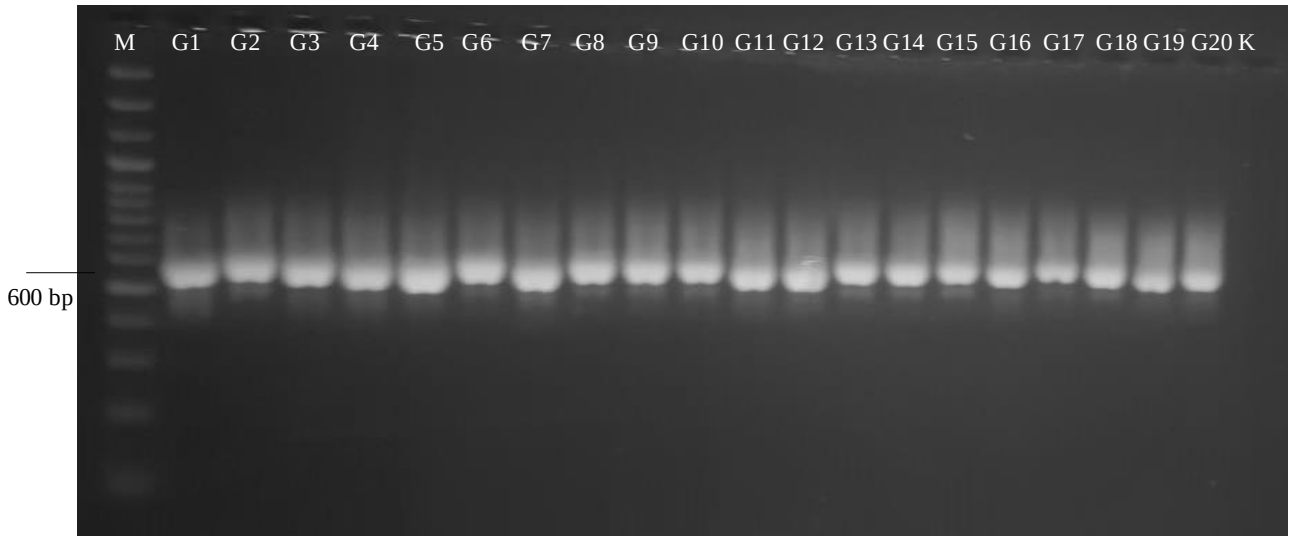
Mayalar gıda endüstrisinde genellikle geleneksel gıda fermantasyonlarında kullanılır ve genellikle güvenli olarak kabul edilir (Hsu ve Chou, 2021). Kefir danesinden izole edilen mayaların tanımlanması, etki mekanizmalarının ortaya koyulabilmesi açısından önemlidir. Belli primerin rastgele genomda yapacağı ampilifikasyona dayalı ve suş bazında ayrımı sağlayabilen uygulama RAPD-PCR'dır. Yapılan çalışmada kefir danesinden izole edilen maya suşlarının tanımlanması için PCR yöntemi kullanılmıştır. İzolatların genomik DNA izolasyonundan sonra M13 primeri ile RAPD-PCR yapılmış ve DNA parmak izlerine göre gruplandırılmıştır. Daha sonra her gruptan temsili izolatlar seçilmiş ve 28S-rRNA PCR yöntemi kullanılarak tanımlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Buna göre toplamda 20 farklı grup elde edilmiştir. Çalışmada DNA fingerprintlerine göre yapılan gruplandırmaların bir kısmı Şekil 17'de verilmiştir.



Şekil 17. Kefir danesi maya izolatlarının M13 RAPD-PCR profillerinin gruplandırılmasının DNA parmak izi görüntüleri (M: Marker; G: Grup)

Mayaların 28S-rRNA PCR ile Tanınması

Maya izolatlarının hangi türe ait olduklarını belirleyebilmek için RAPD-PCR profillerine göre gruplandırılıp her gruptan temsili bir örnek seçilerek kullanılmıştır. 28S rRNA kodlayan genin D1/D2 bölgesini çoğaltmak için PCR işlemi yapılmıştır. PCR işlemi için NL-1 ve NL-4 primerleri kullanılmıştır. Yapılan PCR işlemi ile 600 bp uzunluğundaki bölge ampilifiye edilmiştir. Şekil 18’de grupların NL-1 ve NL-4 primerleri kullanılarak elde edilen 28S-rRNA ampikonlarının jel görüntüsü verilmiştir. DNA sekanslama işlemlerinin sonrasında grupların genetik tanı sonuçları Tablo 22’de sunulmuştur.



Şekil 18. Kefir danesi maya izolatlarının 28S-rRNA geninin ampilifikasyonunu gösteren jel görüntüsü (M: Marker; G: Grup; K: Kontrol)

Tablo 22. Kefir Danelerinden Elde Edilen PDA İzolatlarının 28S-rRNA PCR ile Tanı Sonuçları

Gruplar	İzolat No*	28S-rRNA tanı sonucu	Benzerlik Oranı (%)	Sekans ID
1	501, 525, <u>535</u> , 551, 562, 565, 574, 584, 589, 595, 626	<i>Geotrichum candidum</i>	99,45	MT212722.1
2	<u>502</u> , 503, 591, 604, 605, 608, 609, 612, 613, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 627, 628, 629	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	100	MT510545.1
3	<u>504</u> , 505, 506, 507, 510, 511, 512, 515, 516, 519, 520, 521, 522, 523, 527, 528, 531, 533, 534, 538, 540, 541, 542, 546, 555, 572, 593, 596, 597, 598, 599, 603	<i>Kazachstania unispora</i>	100	MN493828.1
4	<u>508</u> , 509, 513, 514, 606	<i>Pichia fermentans</i>	99,57	MN704650.1
5	<u>517</u> , 518	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	100	MT510545.1
6	524, <u>529</u>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	100	MT510545.1
7	526, <u>545</u> , 547, 594	<i>Kazachstania turicensis</i>	100	MH978869.1
8	<u>530</u> , 532, 585, 586, 587, 588, 590, 592	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100	OR790559.1
9	536, <u>537</u> , 539	<i>Kazachstania unispora</i>	100	MN493827.1
10	<u>543</u> , 544, 549, 550	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100	MN464141.1
11	<u>548</u> , 553	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	99,80	MT510545.1
12	<u>552</u> , 554, 581, 583	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	100	MT510545.1
13	<u>556</u>	<i>Kazachstania unispora</i>	100	MN493827.1
14	<u>557</u> , 558, 559, 566, 576, 577	<i>Kazachstania unispora</i>	100	MN493828.1
15	<u>561</u> , 563, 564, 569, 578, 579	<i>Kazachstania unispora</i>	100	MN493827.1
16	<u>567</u> , 570	<i>Pichia fermentans</i>	100	MN704650.1
17	<u>568</u> , 571, 573, 575, 630, 631, 632	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100	MN736547.1
18	<u>600</u> , 601, 602, 610	<i>Kazachstania unispora</i>	100	MN493828.1
19	<u>607</u> , 614	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	100	MT510545.1
20	<u>611</u>	<i>Candida sake</i>	100	MK749932.1

*Sekans işlemine gönderilen temsili izolatlar altı çizili olarak gösterilmiştir.

28S-rRNA sekans sonuçlarına bakıldığında, farklı türlere ait farklı suşların varlığı değişkenlik göstermiştir. Kefir danelerinde *Kaza. unispora* suşunun en çok izole edilen baskın suş olduğu görülmüş, bunu *Kluy. marxianus* ve *Sacc. cerevisiae* takip etmiştir. *Geot. candidum*, *Pich. fermentans*, *Kaza. turicensis* ve *C. sake* izolatları da yine bu çalışmada elde edilen mayalardır. Yapılan birçok çalışmada bu izolatların kefir danelerinden izole edilebildiği görülmüştür (Pogacic vd., 2013, Prado vd., 2015, Bourrie vd., 2016, Tomar vd., 2017, Plessas vd., 2017). Bu izole edilen suşlar kefirin tanımında yer alan laktozu fermente edebilen (*Kluy. marxianus*) ve fermente edemeyen (*Sacc. cerevisia*) maya türlerine uygun olup bu maya türlerinin kefir daneleri ve örneklerinde yer alabildiği daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Magalhães vd., 2011a, Purutoğlu vd., 2020). Li vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada, Tibet kefir danesinden *Kluy. marxianus*, *Sacc. cerevisia*, *Kaza. unispora* ve *Pich. fermentans* mayaları izole edilmiştir. Yapılan başka çalışmalarda *Kluy. marxianus*, *Sacc. cerevisia* ve *Kaza. unispora* suşları elde edilmiştir (Gao vd., 2012, Purutoğlu vd., 2020). Chen vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada çiftliklerden toplanan çiğ sütlerde *Geot. candidum* ve *Pich. fermentans* izolatları elde edilmiştir. Hsiung vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada, Tayvan’da toplanan farklı fermente gıda ürünleri ve içeceklerde *Kluy. marxianus*, *Sacc. cerevisiae*, *Kaza. turicensis* ve *Kaza. unispora* izolatları elde edilmiştir.

Elde edilen 16S rRNA ve 28S rRNA sonuçlarına göre, *H. paravei*, *C. freundii*, *K. oxytoca*, *P. fragi*, *P. brenneri*, *P. psychrophila*, *P. lundensis*, *Bacillus pumilus*, *Ac. johnsonii*, *Ac. guillouiae*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *Pich. fermentans*, *Geot. candidum* ve *C. sake* suşları yapılan sonraki çalışmalarda kullanılmamıştır. Çünkü bu çalışmanın amaçlarından biri, elde edilen suşlarla kefir üretimi olduğu ve bu suşlar kefir üretiminde kullanılması gereken zorunlu izolatlar sınıfında olmadığı için (Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği ve Codex Alimentarius Standard’ına göre) sonraki çalışmalara dahil edilmemişlerdir.

İzolatların Probiyotik Karakterizasyonu

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak sınıflandırılabilmesi için, konakçı organizmada hayatta kalabilmesi ve belirli kriterleri karşılaması gerekir. Bu kriterler arasında vücut sıcaklığına (37°C) dayanma yeteneği, gastrointestinal sistemden geçiş sırasında pH değişikliklerine uyum sağlama, iyi biyoteknolojik özellikler (gıda, yem ve besin takviyelerinde canlı kalma, fajlara karşı direnç, suş stabilitesi, büyük ölçekte kültüre alınabilme, oksijene dayanıklılık, ürünün tadı üzerinde olumsuz etki etmeme), mide sıvısına, değişen oksijen konsantrasyonlarına, enzimlere maruz kalmaya dayanma ve safra ve pankreas tuzlarına direnç gösterme yeteneği yer alır (Elcioglu ve Kunduhoglu, 2014, Çetin ve Bazu Çırpıcı, 2023). Gastrointestinal sisteme giren probiyotik adaylarının in vitro seçim kriterleri birkaç temel faktörü kapsamaktadır. Bunlar arasında, 37°C'de gelişebilme yeteneği, insan sindirim sisteminin olumsuz koşullarında hayatta kalma (pankreas suyuna, düşük pH ve sindirim enzimlerine maruz kalma gibi), mide asiditesine ve safra tuzlarına karşı dayanıklılık, organik asitlerin (laktik asit, asetik asit ve propiyonik asit) varlığı gibi strese karşı direnç sayılabilir. Ek olarak, arzu edilen özellikler arasında patojenlerin varlığında mukus ve epitel hücrelerine rekabetçi yapışma, biyolojik fonksiyonların yerine getirilmesi yoluyla konakçı ortamına katkı, mikrobiyotanın düzenlenmesi, patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite ve safra tuzlarını hidrolize etme kapasitesi yer almaktadır (García-Hernández vd., 2012, Staniszewski ve Kordowska-Wiater, 2021, Hsiung vd., 2021).

Safra tuzlarına tolerans

Safra tuzu direnci, herhangi bir mikrobiyal suşun probiyotik kültür olarak kullanılması için kriterlerden biridir. Bağırsakta safranin varlığı LAB'nin canlılığını etkiler (Kumar ve Kumar, 2015). Safra tolerans, ileumda probiyotiklerin kolonizasyonu ve metabolik aktivitesi için bir önkoşuldur. Safra tuzlarının bazı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ve büyümeyi yavaşlatabileceği bilinmektedir (Byakika vd., 2020). Safra direnci, bir organizmanın bağırsak sisteminde büyümesine izin vermek için önemlidir (Psomas vd., 2001).

Kefirde bulunması gereken bakteriler ve mayalar dikkate alındığında MRS, M17, GYC ve PDA besiyerinden izole edilen suşlardan sırasıyla 103, 67, 49 ve 110 tanesine safra tuzuna tolerans analizi yapılmıştır. Bu amaçla %0,3, %0,5 ve %1 safra içeren MRS, M17, SM ve YPD broth kullanılmıştır. MRS, M17, SM ve YPD broth besiyerindeki izolatların safra tuzlarındaki gelişimi sırasıyla Tablo 23, Tablo 24, Tablo 25 ve Tablo 26'da gösterilmiştir.

Tablo 23. İzole Edilen Kefir Bakterilerinin MRS Broth Besiyerinde Safra Tuzlarındaki Gelişimi

İzolat No	Safra Tuzu Konsantrasyonu (%)			İzolat No	Safra Tuzu Konsantrasyonu (%)		
	0,3	0,5	1		0,3	0,5	1
1	+	+	+	55	+	+	-
2	+	+	+	56	+	+	+
4	+	+	+	57	-	-	-
5	+	+	+	59	+	-	-
6	+	+	+	60	+	+	+
7	+	+	+	61	+	+	+
8	+	+	+	62	+	+	-
9	+	+	+	63	+	+	+
10	+	+	+	64	-	-	-
11	+	+	+	65	+	+	+
14	+	+	-	66	+	+	+
15	+	+	+	67	+	+	+
16	+	+	+	68	+	+	-
17	+	-	-	69	+	+	+
18	-	-	-	70	+	-	-
19	+	+	+	72	-	-	-
20	-	-	-	73	+	+	+
22	+	+	+	74	+	+	+
23	+	+	-	75	+	+	+
24	+	-	-	76	+	+	+
25	+	+	+	77	+	-	-
26	+	-	-	78	+	-	-
27	+	+	-	79	+	+	+
29	+	+	+	80	-	-	-
30	+	+	+	81	+	+	+
31	-	-	-	83	-	-	-
34	+	+	+	84	+	+	+
35	-	-	-	85	+	-	-
36	-	-	-	86	+	+	-
37	-	-	-	87	+	+	+
38	+	-	-	88	+	+	+
39	-	-	-	89	-	-	-
41	+	+	+	90	+	+	+
42	+	+	+	91	+	+	-
43	-	-	-	92	+	+	+
44	+	+	-	93	+	+	+
45	+	+	+	94	+	+	+
46	+	+	+	95	-	-	-
47	+	+	+	96	-	-	-
48	+	+	+	97	+	+	+
49	+	+	+	98	+	+	+
50	+	+	+	99	+	+	+
51	+	+	+	100	-	-	-
52	+	+	-	101	+	+	+
53	+	+	-	102	+	+	+
54	+	+	+	105	+	+	-

Tablo 23. Devamı

İzolat No	Safra Tuzu Konsantrasyonu (%)			İzolat No	Safra Tuzu Konsantrasyonu (%)		
	0,3	0,5	1		0,3	0,5	1
106	-	-	-	113	+	+	+
107	+	+	+	114	-	-	-
109	+	+	+	115	+	+	+
110	+	+	+	116	+	+	+
111	+	+	+	117	+	-	-
112	+	+	+				

Sonuçlara bakıldığında 62 tane izolatın tüm safra oranlarında (%0,3, %0,5 ve %1) geliştiği görülmüştür. 14, 23, 27, 44, 52, 53, 55, 62, 68, 86, 91 ve 105 numaralı izolatlar %0,3 ve %0,5 safra içeren besiyerinde gelişim gösterirken; 17, 24, 26, 38, 59, 70, 77, 78, 85 ve 117 numaralı suşlar sadece %0,3 numaralı safra içeren besiyerinde geliştiği gözlenmiştir. 19 tane izolatın ise hiçbir safra içeriğinde gelişim göstermediği tespit edilmiştir. %0,3 safra içeren sıvı besiyerinde gelişim gösteren izolatlar muhtemel probiyotik olarak değerlendirilmiş ve daha sonraki probiyotiklik testlerine tabi tutulmuşlardır. Buna göre, 84 tane suş muhtemel probiyotik olarak değerlendirilmiştir. *Len. kefir*i suşlarından 18, 35, 36, 39, 43, 57, 89, 95, 96, 106 ve 116 numaralı suşlar, *Lcb. paracasei* suşlarından 72, 80, 83 ve 100 numaralı suşlar, *Leu. mesenteroides* suşlarından 20 ve 26 numaralı suşlar, *Len. diolivorans* suşlarından 31 numaralı suş, *Sch. harbinensis* suşlarından 37 numaralı suş ve *Lc. lactis* suşlarından 64 numaralı suş safraya tolerans göstermemiştir.

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında *Lcb. paracasei* suşlarının %0,3, %0,5 ve %1 safra içeren besiyerlerinde geliştiği görülmüştür (Elcioglu ve Kunduhoglu, 2014, Angmo vd., 2016). Bu çalışmaya bakıldığında da *Lcb. paracasei* suşlarının birçoğunun (52, 72, 80, 83 ve 100 numaralı suşlar hariç) safrayı tüm safra konsantrasyonlarında geçtiği, dirençli olduğu görülmektedir. Yapılan başka bir çalışmada *Lc. lactis* suşunun %1 safra içeriğine dirençli olduğu belirlenmiştir (Byakika vd., 2020). Leite vd. (2015), Brezilya kefir danelerinden izole edilen *Leu. mesenteroides*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris*, *Lcb. paracasei* ve *Lc. lactis* ssp. *lactis* suşlarının hepsinin (32 adet) %0,3 safra konsantrasyonuna dirençli olduğunu tespit etmiştir. *Len. kefir*i suşunun %0,3, %0,5 ve %1 safra konsantrasyonuna dirençli olduğu bu çalışmada olduğu gibi Zheng vd. (2013) tarafından yapılan çalışmayla da ortaya koyulmuştur. *Lb. kefiranofaciens* suşu, Zanirati vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada %0,3 safra içeriğine dirençli olduğu bulunurken, bu çalışmadaki suş %0,5 ve %1 konsantrasyondaki safraya dahi dirençli olarak bulunmuştur. *Len. diolivorans* suşu da aynı çalışmada orta derecede safraya dirençli olarak bulunmuştur. Bu çalışmaya bakıldığında ise 90 numaralı *Len. diolivorans* suşu safranın tüm oranlarına dirençli olarak tespit edilmiştir. %0,3 safra konsantrasyonunda S.

vestibularis suşunun direncinin düşük olduğu bir çalışmada rapor edilmiştir (Carvajal vd., 2023).

Tablo 24. İzole Edilen Kefir Bakterilerinin M17 Broth Besiyerinde Safra Tuzlarındaki Gelişimi

İzolat No	Safra Tuzu Konsantrasyonu (%)			İzolat No	Safra Tuzu Konsantrasyonu (%)		
	0,3	0,5	1		0,3	0,5	1
202	+	+	+	280	+	+	+
203	+	+	+	281	+	+	+
204	+	+	+	283	+	+	+
205	+	+	+	286	+	+	+
206	+	+	+	288	+	+	+
207	+	+	+	289	+	+	+
208	+	+	+	292	+	+	+
209	+	+	+	294	+	+	+
213	+	+	+	296	+	+	+
214	+	+	+	297	+	+	+
225	+	+	+	299	+	+	+
226	+	+	+	450	+	+	+
227	+	+	+	451	+	+	+
230	+	+	+	452	+	+	+
232	+	+	+	454	+	+	+
233	+	+	+	457	+	+	+
238	+	+	+	458	+	+	+
239	+	+	+	459	+	+	+
246	+	+	+	463	+	+	+
247	+	+	+	466	+	+	+
249	+	+	+	467	+	+	+
250	+	+	+	468	+	+	+
252	+	+	+	469	+	+	+
253	+	+	+	475	+	+	+
255	+	+	+	476	+	+	+
256	+	+	+	477	+	+	+
258	+	+	+	478	+	+	+
259	+	+	+	479	+	+	+
260	+	+	+	480	+	+	+
261	+	+	+	481	+	+	+
267	+	+	+	482	+	+	+
268	+	+	+	483	+	+	+
275	+	+	+	484	+	+	+
279	+	+	+				

Sonuçlar incelendiğinde, M17 besiyerinden elde edilen 67 tane kefir bakteri izolatının (*Lc. lactis* ve *Leu. mesenteroides*) hepsinin tüm safra oranlarında geliştiği görülmektedir. Bu izolatların hepsi muhtemel probiyotik olarak değerlendirilmiş ve daha sonraki probiyotiklik testlerine tabi tutulmuşlardır. Çiğ süttten ve kefir danelerinden izole edilen 14 farklı *Lc. lactis* suşunun %0,3, %0,5 ve %1 safra içeren besiyerlerinde gelişim göstermediği belirlenmiştir (Yerlikaya, 2019). Literatürde ve bu çalışmada ise tam tersine bütün izole edilen *Lc. lactis*

suşlarının tüm safra oranlarında geliştiği görülmüştür (Vinderola ve Reinheimer, 2003). Akpınar ve Yerlikaya (2021) tarafından yapılan çalışmada *Leu. mesenteroides* suşu safraya tolerans gösteremezken bu çalışmada ve literatürdeki başka çalışmalarda tolere edebildiği görülmüştür (Shukla vd., 2014, de Paula vd., 2014).

Tablo 25. İzole Edilen Kefir Bakterilerinin SM Broth Besiyerinde Safra Tuzlarındaki Gelişimi

İzolat No	Safra Tuzu Konsantrasyonu (%)			İzolat No	Safra Tuzu Konsantrasyonu (%)		
	0,3	0,5	1		0,3	0,5	1
301	-	-	-	378	-	-	-
302	-	-	-	379	-	-	-
303	-	-	-	381	-	-	-
304	-	-	-	383	-	-	-
305	-	-	-	384	-	-	-
306	-	-	-	385	-	-	-
308	-	-	-	387	-	-	-
310	-	-	-	388	-	-	-
329	-	-	-	391	-	-	-
330	-	-	-	392	-	-	-
335	-	-	-	394	-	-	-
337	-	-	-	398	+	+	+
339	-	-	-	399	-	-	-
345	-	-	-	650	-	-	-
350	-	-	-	653	-	-	-
354	+	-	-	654	-	-	-
357	-	-	-	661	-	-	-
358	-	-	-	662	-	-	-
362	-	-	-	663	-	-	-
366	-	-	-	664	-	-	-
367	-	-	-	665	-	-	-
370	-	-	-	666	-	-	-
373	-	-	-	667	-	-	-
375	-	-	-	668	-	-	-
376	-	-	-				

Sonuçlar değerlendirildiğinde, sadece *Lc. lactis* 398 numaralı suşun tüm safra konsantrasyonlarında gelişirken; *Lc. lactis* 354 numaralı suş sadece %0,3 safra içeriğinde geliştiği gözlemlenmiştir. Geriye kalan 47 izolat hiçbir safra oranında pozitif gelişim gösterememiştir. Dolayısı ile sadece 354 ve 398 numaralı izolatlar muhtemel probiyotik sayılıp, probiyotik testlerine tabi tutulmuşlardır. Yerlikaya (2019) ve Akpınar ve Yerlikaya (2021) tarafından yapılan çalışmalara benzer sonuç bu çalışmada GYC besiyerinden izole edilen *Leu. mesenteroides* ve *Lc. lactis* suşlarında görülmüştür.

Tablo 26. İzole Edilen Kefir Mayalarının YPD Broth Besiyerinde Safra Tuzlarındaki Gelişimi

İzolât No	Safra Tuzu Konsantrasyonu (%)			İzolât No	Safra Tuzu Konsantrasyonu (%)		
	0,3	0,5	1		0,3	0,5	1
502	+	+	+	556	-	-	-
503	+	+	+	557	-	-	-
504	-	-	-	558	-	-	-
505	-	-	-	559	-	-	-
506	+	+	+	561	-	-	-
507	-	-	-	563	+	+	+
510	+	+	+	564	-	-	-
511	+	+	+	566	-	-	-
512	+	+	+	568	+	+	+
515	+	+	+	569	-	-	-
516	-	-	-	571	+	+	+
517	+	+	+	572	+	+	+
518	+	+	+	573	+	+	+
519	+	+	+	575	+	+	+
520	-	-	-	576	-	-	-
521	+	+	+	577	-	-	-
522	-	-	-	578	-	-	-
523	-	-	-	579	-	-	-
524	+	+	+	581	+	+	+
526	-	-	-	583	+	+	+
527	+	+	+	585	+	+	-
528	+	+	+	586	+	+	-
529	+	+	+	587	+	-	-
530	+	+	+	588	+	+	+
531	+	+	+	590	+	+	+
532	+	+	+	591	+	+	+
533	+	+	+	592	+	+	+
534	-	-	-	593	-	-	-
536	-	-	-	594	+	+	+
537	-	-	-	596	+	+	+
538	+	+	+	597	+	+	+
539	-	-	-	598	+	+	+
540	+	+	+	599	-	-	-
541	+	+	-	600	-	-	-
542	+	+	+	601	+	+	+
543	+	+	+	602	+	+	+
544	+	+	+	603	-	-	-
545	-	-	-	604	+	+	+
546	-	-	-	605	+	+	+
547	-	-	-	607	+	+	+
548	+	+	+	608	+	+	-
549	+	+	+	609	+	+	+
550	+	+	+	610	+	+	+
552	+	+	+	612	+	+	+
553	+	+	+	613	+	+	+
554	+	+	+	614	+	+	+
555	-	-	-	615	+	+	+

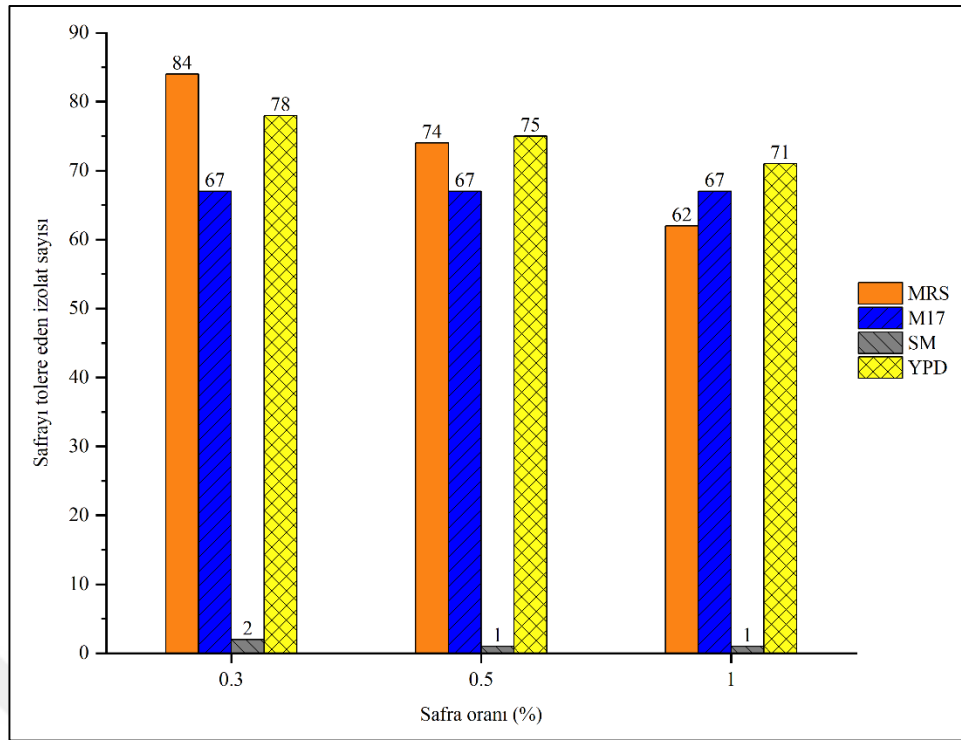
Tablo 26. Devamı

İzolat No	Safraya Tuzu Konsantrasyonu (%)			İzolat No	Safraya Tuzu Konsantrasyonu (%)		
	0,3	0,5	1		0,3	0,5	1
616	+	+	+	624	+	+	+
617	+	+	+	625	+	+	+
618	+	+	+	627	+	+	+
619	+	+	+	628	+	+	+
620	+	+	+	629	+	+	+
621	+	+	+	630	+	+	+
622	+	+	+	631	+	-	-
623	+	+	+	632	+	-	-

Sonuçlar değerlendirildiğinde, 71 maya izolatının tüm safraya oranlarında geliştiği görülmektedir. 541, 585, 586 ve 608 numaralı izolatlar ise %0,3 ve %0,5 safraya konsantrasyonlarında gelişim gösterirken; 587, 631 ve 632 numaralı izolatlar sadece %0,3 safraya oranında gelişmişlerdir. Geriye kalan 32 tane izolat hiç gelişim göstermemiştir. Böylece 78 tane maya izolatı muhtemel probiyotik sayılmış ve sonraki probiyotik analizlerine tabi tutulmuştur. Çalışmada izole edilen tüm *Kluy. marxianus* ve *Sacc. cerevisiae* izolatlarının safraya direnç gösterdiği bulunmuştur. Safraya tolerans göstermeyen suşlara bakıldığında ise 32 izolattan 29 tanesinin (~%91) *Kaza. unispora* olduğu görülmektedir. Bu oran *Kaza. unispora* suşları arasında, ~%56'sının (52 suştan 29'u) safraya tolerans gösteremeyip inhibe olduğunu göstermektedir. Safraya direnç gösteremeyen diğer 3 izolat ise *Kaza. turicensis*'dir.

Bebek dışkısı ve Feta peynirinden izole edilen *Sacc. cerevisiae* suşunun kullanıldığı bir çalışmada insan orjinli olan izolatın %0,3 safraya tuzu içeren YPD besiyerinde safraya dirençli olduğu tespit edilmiştir (Psomas vd., 2003). *Kluy. marxianus* suşunun baskın olarak izole edildiği bir çalışmada bu suşun safrayı tolere edildiği görülmüştür (Pedersen vd., 2012). *Kluy. marxianus* ve *Sacc. cerevisiae* suşlarının İran kefirinden elde edildiği bir çalışmada bu suşun %0,3 safraya içeren besiyerinde 8 saat bekletildiğinde tüm suşların canlı kalmaya devam ettiği tespit edilmiştir (Rahmani vd., 2022). Hsiung vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada *Kluy. marxianus* suşları safraya tuzlarını tolere ederken; *Kaza. unispora* suşlarının inhibe olduğu görülmüştür. Alınan sonucun bu çalışmaya benzediği görülmüştür. Gürkan Özlü vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada da *Kluy. marxianus* suşu safraya dirençli olarak bulunmuştur.

Lcb. casei ATCC 393, *Lcb. casei* strain Shirota ve *Sacc. boulardii* CNCM I-745 suşları bu deney için pozitif kontrol olarak kullanılmış ve tüm safraya konsantrasyonlarında iyi bir gelişim gösterdikleri tespit edilmiştir. Safrayı tolere eden izolatların sayısı besiyerlerine göre karşılaştırılması Şekil 19'da verilmiştir.



Şekil 19. Safraya tolerans gösteren izolat sayısı

Mide ortamına dayanıklılık

İnsan gastrointestinal sisteminde mide, ince bağırsak ve kolon arasındaki bakteri sayısı ve popülasyonlarında farklılıklar vardır. Mide içeriğindeki toplam bakteri sayısı genellikle g başına 10^3 'ün altındadır (Fooks vd., 1999). Mide sıvısı, mide ve duodenumda bulunan ve birçok mikroorganizmayı inhibe edebilen biyolojik bariyerlerdir. Bu nedenle probiyotiklerin, pH'ın $\leq 3,0$ kadar düşük olabileceği mideden geçerken hayatta kalması ve 2-4 saat boyunca canlı kalması gerekir (Byakika vd., 2020). Probiyotik bakterilerin mideden geçişte hayatta kalma yeteneğinin değişken ve suşa bağlı olduğu rapor edilmiştir (Vinderola ve Reinheimer, 2003).

Simüle mide sıvısına dayanım testi safraya toleranslı olan izolatlara yapılmıştır. Buna göre safralı MRS, M17, SM ve YPD broth içinde gelişim gösteren sırasıyla 84, 67, 2 ve 78 izolata mide testi uygulanmıştır. *Lcb. casei* ATCC 393, *Lcb. casei* strain Shirota ve *Sacc. boulardii* CNCM I-745 suşları bu deney için pozitif kontrol olarak kullanılmış ve simüle mideyi tolerans oranı logaritmik olarak verilmiştir. Muhtemel probiyotik izolatların simüle mide ortamına tolerans değerleri Tablo 27, Tablo 28 ve Tablo 29'da sunulmuştur.

Tablo 27. MRS Besiyerinden İzole Edilen Muhtemel Probiyotik İzolatların Simüle Mide Ortamına Toleransları

İzolat No	Simüle Mide Ortamına Eklenen Canlı Hücre Sayısı (log kob/mL)	Simüle Mide Ortamında Canlı Kalan Hücre Sayısı (log kob/mL)
	0. saat	3. saat
1	7,47	<1
2	7,55	5,00
4	7,12	<1
5	7,60	5,90
6	7,60	6,00
7	7,28	<1
8	7,71	6,00
9	7,60	5,48
10	7,16	<1
11	6,74	<1
14	6,88	5,70
15	7,96	<1
16	7,42	5,85
17	6,08	<1
19	7,77	<1
22	7,06	5,60
23	6,72	5,00
24	7,58	5,00
25	7,05	5,00
26	7,41	<1
27	6,90	<1
29	6,88	<1
30	6,51	<1
34	6,40	5,30
38	6,58	<1
41	7,65	5,00
42	7,64	<1
44	7,14	5,85
45	7,43	<1
46	7,36	<1
47	7,00	5,30
48	7,00	<1
49	6,52	<1
50	7,11	5,00
51	7,13	5,00
52	7,09	<1
53	6,68	<1
54	7,19	<1
55	6,58	5,00
56	6,70	5,48
59	6,86	5,48
60	6,32	<1
61	6,63	<1
62	6,59	<1

Tablo 27. Devamı

İzolat No	Simüle Mide Ortamına Eklenen Canlı Hücre Sayısı (log kob/mL)	Simüle Mide Ortamında Canlı Kalan Hücre Sayısı (log kob/mL)
	0. saat	3. saat
63	6,01	<1
65	7,37	<1
66	7,25	<1
67	7,40	<1
68	7,24	<1
69	6,99	<1
70	7,58	5,00
73	7,36	<1
74	7,37	6,11
75	7,34	5,60
76	7,43	5,90
77	6,86	5,00
78	6,98	<1
79	6,79	<1
81	7,31	<1
84	7,67	5,48
85	7,10	<1
86	6,97	<1
87	7,11	5,85
88	6,74	5,00
90	6,43	<1
91	6,15	<1
92	5,60	<1
93	6,73	<1
94	6,41	<1
97	7,50	<1
98	6,82	5,48
99	7,33	5,00
101	7,27	<1
102	7,39	<1
105	7,22	<1
107	6,78	<1
109	7,16	<1
110	7,48	5,95
111	6,54	5,30
112	6,71	<1
113	6,23	<1
115	5,20	<1
116	5,30	<1
117	7,55	5,30
<i>Lcb. casei</i> ATCC 393	7,24	<1
<i>Lcb. casei</i> strain Shirota	7,35	<1

Sonuçlar incelendiğinde 51 bakteri izolatının simüle mide sıvısını tolere edemeyip, inhibe olduğu (<1) görülmektedir. Bu sonuç, safrayı geçen izolatların (84 adet) yaklaşık olarak %60,71'sinin mideyi tolere edemediğini göstermektedir. Mide ortamına dayanıklılık analizinde pozitif kontrol olarak kullanılan ve literatürde probiyotik olarak kabul edilen *Lcb. casei* ATCC 393 ve *Lcb. casei* strain Shirota izolatlarının 3.saatın sonunda mide ortamında inhibe olduğu yani simüle mide sıvısını tolere edemediği belirlenmiştir. *Lcb. casei* Shirota izolatının kontrol olarak kullanıldığı bir çalışmada, bu izolatın mide sıvı ortamında 1 saat sonra canlılık göstermediği bulunmuştur (González-Vázquez vd., 2015). Bu çalışmada elde edilen sonuçlara bakıldığında ve kontrol suşları ile karşılaştırıldığında mide sıvısını tolere eden (33 adet) ancak nispeten canlılıkta azalma olduğu görülen suşların, probiyotik olabilme ihtimalinin yüksek olduğu düşünülmektedir. *Len. kefir* izolatlarından 14, 16, 23, 24, 34, 44, 55, 56, 59, 70, 77, 87, 88 ve 110 numaralı suşlar ve *Lc. lactis* 5, 6, 8, 22, 25, 41, 75, 76, 84 ve 98 numaralı suşlar mideyi en fazla tolere eden bakteriler olurken, bunu *Lcb. paracasei* 2, 50, 51 ve 99, *Leu. mesenteroides* 117, *Sch. harbinensis* 47, *Len. parabuchneri* 111, *Lb. kefiranofaciens* 74 ve *S. vestibularis* 9 suşları takip etmektedir. *Len. diolivorans* ve *Lb. helveticus* izolatlarının ise mide ortamında inhibe olduğu görülmektedir.

Mantzourani vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, kefir danelerinden izole edilen *Lcb. paracasei* SP5 suşunun mide ortamını tolere edebildiği bulunmuştur. Yapılan diğer çalışmalarda *Lcb. paracasei* suşlarından bazılarının mide sıvısını tolere ederken bazılarının tolere edemediği görülmüş olup, elde edilen sonuç bu çalışmanın sonucunun literatüre uyumlu olduğunu göstermektedir (Maragkoudakis vd., 2006, Elcioglu ve Kunduhoglu, 2014). Zanirati vd. (2015), Brezilya kefir danelerinden izole edilen *Len. kefir* izolatlarının bazılarının mide ortamına direnç gösterirken bazılarının göstermediğini bulmuş ve böylece bu çalışmada elde edilen sonucun literatüre benzediği ortaya çıkmıştır. Yine aynı çalışmada, *Lb. kefiranofaciens* izolatının 3 saat mide sıvısında bekletildikten sonra direncinin fazla olduğu görülmüştür. Literatüre bakıldığında *Lc. lactis* izolatının simüle mide ortamında 2. saatin sonunda başlangıç sayısına göre yaklaşık olarak %50 canlı kalırken, bu çalışmada elde edilen sonuçlarda 3. saatin sonunda %50 den fazla canlı hücre sayısı bulunduğu tespit edilmiştir (Frece vd., 2014, Lee vd., 2015). Shehata vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, *Lc. lactis* izolatları 3 saat mide ortamında bekledikten sonra %77,4 ve %85,7 oranında canlı hücre sayısının kaldığı bulunmuştur. Shukla vd. (2014), *Leu. mesenteroides* NRRL B-1149 izolatının pH 3,0 olarak ayarlanmış mide ortamında direnç gösterdiğini bulmuştur. Agostini vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada, *Sch. harbinensis*, *Lcb. paracasei* ve *Len. parabuchneri* izolatlarının pH 3,0 mide sıvısına dirençli olup, canlılık sayısının bizim çalışma sonuçlarımız ile benzer şekilde

%50'den fazla olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, 33 izolatın pH 3,0 ayarlanmış mide simülasyonunda hayatta kalması mideden geçebileceğini göstermiştir.

Tablo 28. M17 ve GYC Besiyerinden İzole Edilen Muhtemel Probiyotik İzolatların Simüle Mide Ortamına Toleransları

İzolat No	Simüle Mide Ortamına Eklenen Canlı Hücre Sayısı (log kob/mL)	Simüle Mide Ortamında Canlı Kalan Hücre Sayısı (log kob/mL)
	0. saat	3. saat
202	7,63	6,38
203	7,76	6,11
204	7,75	6,11
205	7,47	6,25
206	7,68	6,08
207	7,51	5,85
208	6,70	<1
209	7,61	5,48
213	7,42	5,95
214	7,50	5,70
225	7,38	<1
226	7,46	<1
227	7,35	<1
230	6,30	<1
232	7,44	<1
233	7,46	<1
238	6,49	<1
239	7,91	5,78
246	7,64	5,70
247	7,66	6,41
249	7,54	6,48
250	7,58	6,23
252	7,21	6,04
253	7,42	6,08
255	7,44	6,23
256	7,65	5,00
258	7,48	<1
259	7,55	<1
260	7,54	<1
261	7,71	<1
267	7,37	5,00
268	7,09	6,26
275	7,75	5,30
279	7,55	<1
280	7,60	5,00
281	7,34	5,00
283	7,70	<1
286	7,46	6,30
288	7,43	<1
289	7,41	5,78
292	7,88	5,48

Tablo 28. Devamı

İzolat No	Simüle Mide Ortamına Eklenen Canlı Hücre Sayısı (log kob/mL)	Simüle Mide Ortamında Canlı Kalan Hücre Sayısı (log kob/mL)
	0. saat	3. saat
294	7,36	6,43
296	7,66	5,30
297	7,49	6,14
299	7,18	6,00
450	7,30	<1
451	7,58	5,48
452	7,84	5,70
454	7,75	5,48
457	7,69	5,00
458	7,87	5,70
459	7,66	5,60
463	7,65	6,08
466	7,62	<1
467	7,70	<1
468	7,78	<1
469	7,65	<1
475	7,54	5,60
476	7,59	<1
477	7,43	5,30
478	7,74	5,30
479	7,74	5,00
480	7,46	<1
481	7,63	<1
482	7,45	5,48
483	7,27	<1
484	7,41	<1
354	7,52	5,70
398	7,28	5,30

Sonuçlar değerlendirildiğinde 25 tane bakteri izolatının simüle mide sıvısına direnç gösteremeyip inhibe olduğu (<1) görülmektedir. Buna göre, safrayı geçen izolatların (67 adet M17 besiyerinden, 2 adet GYC besiyerinden) yaklaşık olarak %64'nün simüle mide ortamına direnç gösterdiği görülmektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara bakıldığında *Lc. lactis* (44 adet) suşlarının mide sıvısını tolere ettiği görülürken *Leu. mesenteroides* izolatlarının mide ortamında inhibe olduğu görülmektedir. Vinderola ve Reinheimer (2003) tarafından yapılan çalışmada, pH 3,0 mide öz suyunda 37°C'de 3 saat bekleme sonrası *Lc. lactis* bakterisinin logaritmik olarak minimum 3,3 olarak azaldığı görülmüştür. Bu çalışmada ise logaritmik azalma minimum 0,83, maksimum 2,74 olup, bu azalmanın yapılan çalışmadaki değerden daha az olduğu açıkça görülmektedir.

Tablo 29. PDA Besiyerinden İzole Edilen Muhtemel Probiyotik İzolatların Simüle Mide Ortamına Toleransları

İzolat No	Simüle Mide Ortamına Eklenen Canlı Hücre Sayısı (log kob/mL)	Simüle Mide Ortamında Canlı Kalan Hücre Sayısı (log kob/mL)
	0. saat	3. saat
502	5,95	5,70
503	5,95	<1
506	6,26	5,48
510	6,34	6,00
511	5,95	<1
512	6,08	<1
515	6,15	5,00
517	6,36	5,70
518	6,23	<1
519	5,95	<1
521	6,00	<1
524	6,57	5,78
527	6,15	<1
528	6,36	5,30
529	6,18	6,08
530	6,23	5,00
531	6,34	5,30
532	6,23	5,00
533	6,04	5,00
538	6,30	5,00
540	6,32	5,70
541	5,78	<1
542	6,62	5,60
543	6,15	5,30
544	6,40	<1
548	6,56	6,04
549	6,18	<1
550	6,18	<1
552	6,60	5,00
553	6,45	5,30
554	6,04	<1
563	6,23	<1
568	6,00	5,70
571	5,78	5,48
572	6,64	5,30
573	5,90	<1
575	6,26	5,60
581	6,23	<1
583	6,28	6,04
585	6,20	5,30
586	6,20	<1
587	5,95	<1
588	6,26	<1
590	5,60	5,30
591	6,28	<1

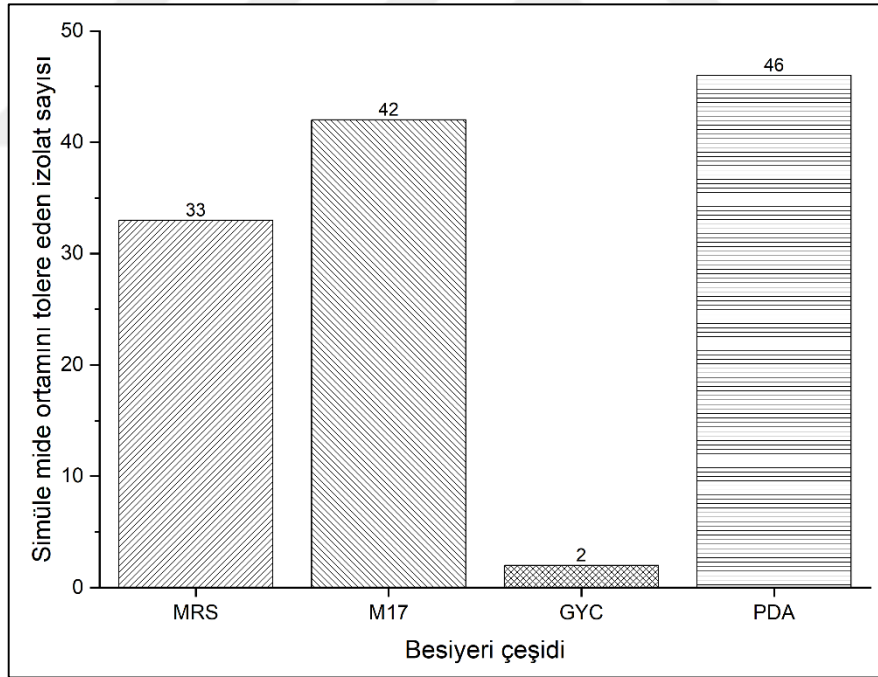
Tablo 29. Devamı

İzolat No	Simüle Mide Ortamına Eklenen Canlı Hücre Sayısı (log kob/mL)	Simüle Mide Ortamında Canlı Kalan Hücre Sayısı (log kob/mL)
	0. saat	3. saat
592	6,23	5,00
594	5,93	5,30
596	6,22	<1
597	6,42	5,60
598	6,20	<1
601	6,18	5,48
602	6,29	5,00
604	6,36	6,04
605	6,26	<1
607	6,26	5,78
608	6,11	<1
609	5,67	5,00
610	6,05	5,00
612	6,25	5,00
613	6,15	5,30
614	6,20	5,85
615	6,32	<1
616	6,28	<1
617	6,12	<1
618	5,93	5,30
619	6,21	5,30
620	6,01	5,30
621	5,89	5,00
622	6,22	5,30
623	6,13	<1
624	6,20	5,48
625	6,22	5,00
627	6,08	5,00
628	6,00	<1
629	6,22	<1
630	5,14	<1
631	4,18	<1
632	4,72	<1
<i>Sacc.</i>	6,32	5,30
<i>boulardii</i> CNCM I-745		

Tablo 29 incelendiğinde, 32 maya izolatının mide ortamını tolere edemeyip, inhibe olduğu (<1), 46 maya izolatının ise tolere edebildiği görülmektedir. Buna göre, safrayı geçen izolatların (78 adet) yaklaşık olarak %59'nun simüle mide ortamına direnç gösterdiği görülmektedir. *Kluy. marxianus* suşlarından 502, 517, 524, 529, 548, 552, 553, 583, 604, 607, 609, 612, 613 ve 614 numaralı olanlar, *Kaza. unispora* suşlarından 506, 510, 515, 528, 531, 533, 538, 540, 542, 572, 597, 601, 602, 610, 618, 619, 620, 621, 622, 624, 625 ve 627 numaralı suşlar, *Sacc. cerevisiae* suşlarından 530, 532, 543, 568, 571, 575, 585, 590 ve 592 numaralı

suşlar ve *Kaza. turicensis* 594 numaralı suşlar simüle mide sıvısına direnç göstermiştir. Mide ortamına dayanıklılık testinde pozitif kontrol olarak kullanılan ve literatürde probiyotik olarak kabul edilen *Sacc. boulardii* CNCM I-745 suşu %83,86 seviyesinde canlılığını korurken, bu çalışmada *Kluy. marxianus* 529 suşu canlılığını (%98) neredeyse tümü ile korumuştur.

Fadda vd. (2017), tarafından yapılan çalışmada, peynirden izole edilen *Kluy. marxianus* suşları 90 dakika simüle mide ortamında bekledikten sonra canlılıklarını koruduğu tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, *Kaza. unispora* KY-5 suşu canlılığını %83,67 oranında korurken (Goktas vd., 2021b), bu çalışmada *Kaza. unispora* 568, *Kaza. unispora* 571 ve *Kaza. unispora* 590 suşları yaklaşık olarak %95 oranında canlılığını korumuştur. Yine aynı çalışmada *Kluy. marxianus* ve *Sacc. cerevisiae* suşlarının canlı kalım oranı bu çalışmadaki değerden daha düşüktür. *Sacc. cerevisiae* suşlarının simüle mide sıvısı ortamında canlı kaldığı Gil-Rodríguez vd. (2015) tarafından da ortaya koyulmuştur. Sonuçlar literatürle karşılaştırıldığında, kefir danesinden izole edilen mayaların simüle mide ortamına daha dayanıklı olduğu görülmektedir. Bu mayaların muhtemel probiyotik olma oranının oldukça yüksek olduğu düşünülmüştür. Şekil 20’de simüle mide ortamını tolere eden izolat sayıları görülmektedir.



Şekil 20. Simüle mideyi ortamını tolere eden izolat sayıları

Mide sonuçları değerlendirilip, canlı hücre kalma sayıları hesaplandığında bakteri izolatlarından 5 (%77,63), 6 (%78,95), 8 (77,82), 14 (%82,84), 22 (%79,32), 23 (%74,40), 34 (%82,81), 44 (%81,93), 47 (%75,71), 55 (%75,99), 56 (%81,79), 59 (%79,88), 74 (%82,90), 75 (%76,29), 76 (%79,41), 77 (%72,89), 87 (%82,28), 88 (%74,18), 98 (%80,35), 110 (79,55), 111 (%81,04), 117 (%70,20), 202 (%83,61), 203 (%78,74), 204 (%78,84), 205 (%83,67), 206

(%79,17), 207 (%77,90), 246 (%74,61), 247 (%83,68), 249 (%85,94), 250 (%82,19), 252 (%83,77), 253 (%81,94), 255 (%83,74), 286 (%84,45), 294 (%87,36), 297 (%81,98), 299 (%83,57), 475 (%74,27) ve 482 (%73,55) numaralı izolatlar diğer probiyotik analizlerine dahil edilmişlerdir.

Maya izolatlarından ise 502 (%95,80), 506 (%87,54), 510 (%94,64), 517 (%89,62), 524 (%87,98), 529 (%98,38), 540 (%90,19), 543 (%86,18), 548 (%92,07), 568 (%95,00), 571 (%94,81), 575 (%89,46), 583 (%96,18), 585 (%85,48), 590 (%94,64), 594 (%89,38), 597 (%87,23), 601 (%88,67), 604 (%94,97), 607 (%92,33), 609 (%88,18), 613 (%86,18), 614 (%94,35), 618 (%89,38) ve 624 (%88,39) numaralı suşlar diğer probiyotik deneylerine dahil edilmişlerdir.

Oto ve ko-agregasyon

Bir mikroorganizmanın potansiyel bir probiyotik tür olarak kabul edilebilmesi için, sindirim sistemi boyunca karşılaşılan zorlu koşullar altında hayatta kalma yanında, oto-agregasyon ve adezyon yetenekleri dahil olmak üzere bazı özellikleri sağlaması gerekir (Goktas vd., 2021a). Bakteriyel oto-agregasyonun, probiyotiklerin adezyon ve kolonizasyon kapasitelerinde rol oynadığı gösterilmiş ve bu fonksiyonların yeni probiyotik suşların seçiminde önemli kriter olduğu belirtilmiştir (Seddik vd., 2017). Oto-agregasyon probiyotiklerin ağız boşluğu, gastrointestinal sistem, ürogenital sisteme ve bağırsak epitel hücrelerine yapışmasını etkilerken, oto-agregasyon yoluyla bir bariyer oluşturarak veya patojenlerle ko-agregasyonları bu patojen bakterilerin bağırsakta kolonileşmesini önleyebilir (Kos vd., 2003, Sabir vd., 2010, Nikolic vd., 2010, Tuo vd., 2013, Abdulla vd., 2014, Seddik vd., 2017, Abushelaibi vd., 2017). Bu nedenle probiyotik suşların, oto-agregasyon özelliklerine sahip olması gerekir (Goktas vd., 2021b). Aynı suşun hücreleri arasında (oto-agregasyon) veya farklı türler ve suşlar arasında (ko-agregasyon) bakteriyel agregasyon, çeşitli ekolojik nişlerde, özellikle probiyotiklerin aktif olacağı insan bağırsağında oldukça önemlidir (Abdulla vd., 2014). Agregasyon yeteneği ve hidrofobik hücre yüzeyi olan laktobasillerin bağırsak hücrelerine yapışma şansı daha fazla olabilir (Abdulla vd., 2014). Ko-agregasyon yeteneği, bağırsaktaki patojenik mikroorganizmaları lümeninden uzaklaştırarak veya patojenlerin tutunmasına müdahale ederek bağırsak epitelyumuna doğrudan yapışarak konağın enterik enfeksiyonlardan korunmasını sağlayabilir (Binetti vd., 2013).

37°C'de 2, 4 ve 24 saatlik inkübasyon sırasında oto-agregasyon yüzdeleri bakteriler için Tablo 30'da mayalar için Tablo 31'de verilmiştir. *Lcb. casei* ATCC 393, *Lcb. casei* strain Shirota ve *Sacc. boulardii* CNCM I-745 suşları ise kontrol olarak kullanılmıştır.

Tablo 30. Bakteri İzolatlarının Oto-agregasyon Yüzdeleri

İzolat no	Oto-agregasyon (%)			İzolat no	Oto-agregasyon (%)		
	2st	4st	24st		2st	4st	24st
5	3,67±4,33	8,22±3,69	53,08±1,03	202	8,05±1,49	7,72±2,93	33,53±4,40
6	4,48±1,75	11,48±5,70	50,43±5,00	203	5,42±1,28	6,28±0,59	32,96±0,70
8	7,82±1,37	15,19±0,73	37,50±0,64	204	9,24±0,48	13,02±1,92	31,23±1,95
14	14,28±3,68	20,50±0,09	54,18±0,11	205	7,59±2,31	9,95±0,56	27,34±1,45
22	13,37±4,18	14,30±2,49	41,81±1,79	206	8,96±4,05	12,38±0,64	30,67±4,41
23	14,79±2,17	29,02±10,96	71,52±4,17	207	7,76±1,47	12,60±0,09	34,18±1,64
34	31,57±4,78	62,56±15,26	78,83±1,30	246	3,52±0,58	8,40±1,67	27,81±5,57
44	34,24±0,79	59,25±0,93	81,10±0,80	247	6,70±0,39	13,15±1,01	45,89±0,45
47	24,96±0,62	35,62±1,35	71,71±3,89	249	6,48±1,98	17,37±3,12	44,61±1,59
55	22,04±0,70	39,79±0,48	77,08±4,74	250	11,88±5,56	10,84±0,40	33,38±2,00
56	7,15±2,69	17,29±3,55	65,98±2,24	252	4,44±0,68	8,68±2,46	19,80±1,45
59	74,47±1,16	76,25±0,73	86,07±0,10	253	13,03±3,58	21,46±2,98	44,35±1,08
74	12,21±1,29	18,37±2,09	55,98±3,64	255	6,74±1,72	11,70±3,02	46,04±5,95
75	3,09±0,24	10,21±1,34	48,08±6,48	286	9,33±0,50	19,62±1,88	40,04±2,40
76	0,22±0,12	9,59±1,44	56,45±1,06	294	11,27±3,88	18,65±4,95	62,23±2,26
77	70,35±0,07	70,64±0,72	86,35±0,68	297	8,23±2,47	8,55±0,05	42,14±7,37
87	54,40±4,65	78,76±2,17	83,83±0,03	299	7,89±3,07	11,18±1,97	67,45±11,70
88	7,22±0,58	9,04±0,02	70,98±3,19	475	2,93±0,60	6,23±1,54	20,22±0,95
98	13,57±0,42	16,67±1,97	41,12±1,33	482	18,59±7,67	27,94±3,75	57,09±3,36
110	10,52±1,96	17,76±0,36	83,94±0,98				
111	12,30±2,12	13,50±2,81	44,57±1,16				
117	3,54±0,78	5,73±1,42	33,50±0,71				
<i>Lcb. casei</i> ATCC 393	17,73±0,27	20,19±3,76	75,66±7,36				
<i>Lcb. casei</i> strain Shirota	5,17±1,76	11,47±2,21	48,23±5,48				

Tablo 31. Maya İzolatlarının Oto-agregasyon Yüzdeleri

İzolat no	Oto-agregasyon (%)		
	2st	4st	24st
502	91,38±0,53	92,00±2,57	94,47±0,89
506	88,95±1,71	89,32±1,24	90,43±1,48
510	87,09±1,29	88,67±0,02	88,70±0,56
517	88,26±2,41	89,98±1,05	93,51±0,13
524	87,98±0,83	90,24±1,32	92,75±1,43
529	91,52±1,04	92,49±1,13	94,75±1,25
540	81,19±1,29	89,80±0,72	91,78±0,24
543	91,31±1,90	93,35±0,23	92,78±0,25
548	89,25±0,91	91,36±0,14	92,47±2,79
568	93,83±0,60	94,23±0,75	94,53±0,85
571	93,53±0,85	94,06±0,33	94,56±1,14
575	86,82±0,19	87,95±0,59	94,76±1,31
583	90,26±2,04	91,37±1,71	95,59±0,48
585	93,65±0,17	94,64±1,14	95,18±0,57
590	91,57±0,06	93,59±0,21	93,81±0,07
594	82,57±0,23	86,82±0,27	87,05±0,90
597	90,18±0,77	93,24±1,33	95,81±0,14
601	88,10±1,40	93,04±1,85	94,25±0,42
604	92,18±1,10	93,63±0,61	96,61±0,12
607	89,13±1,46	92,68±1,18	93,97±0,65
609	93,79±0,30	94,97±0,30	95,92±0,19
613	93,64±0,65	94,81±0,66	95,55±0,36
614	89,89±0,38	90,83±0,38	95,48±0,33
618	86,95±1,01	90,65±0,78	91,58±2,86
624	88,14±0,66	91,62±0,09	92,20±0,70
<i>Sacc. boulardii</i> CNCM I-745	86,24±2,03	89,32±2,15	94,37±0,78

Tablo 30’da sunulan veriler incelendiğinde, 2. saatin sonunda 59 ve 77 numaralı bakteri izolatlarının en yüksek oto-agregasyon yüzdesine (sırasıyla %74,47 ve %70,35) sahip olduğu, 76 numaralı izolatın ise en düşük (%0,22) oto-agregasyona sahip olduğu tespit edilmiştir. Kontrol olarak kullanılan bakteri izolatlarının 2. saatindeki oto-agregasyon yüzdesi %5,17 ve %17,73 olup, bu çalışmada elde edilen bazı bakteri izolatlarından daha düşük oto-agregasyona sahiptir. 4. saatin sonunda 77 numaralı izolatın oto-agregasyon yüzdesi aynı olurken 87 numaralı izolatın en yüksek oto-agregasyona sahip olduğu (%78,76), bunu 59 numaralı (%76,25) izolatın takip ettiği bulunmuştur. 117 numaralı izolat ise 4. saatin sonunda %5,75 ile en düşük oto-agregasyona sahip olduğu belirlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan bakteri izolatlarının 4. saatindeki oto-agregasyon yüzdesi %11,47 ve %20,19 olup, bu çalışmada elde edilen bazı bakteri izolatlarından daha düşük oto-agregasyona sahiptir. 24. saatin sonunda ise 77, 59, 110, 87 ve 44 numaralı izolatların %80’in üzerinde oto-agregasyona sahip olduğu gözlenmiş olup sırası ile bu değerler %86,35, %86,07, %83,94, %83,83 ve %81,10 olarak

bulunmuştur. 24. saatin sonunda ise yine 117 numaralı izolat %33,50 ile en düşük oto-agregasyona sahipken bunu %37,50 ile 8 numaralı izolat takip etmektedir. 24.saatin sonunda %48,23 ve %75,66 oto-agregasyon yüzdesine sahip kontrol bakteri izolatlarının oto-agregasyonu bu çalışmada elde edilen bazı bakterilerden daha düşüktür.

Abushelaibi vd. (2017), *Lc. lactis* izolatının oto-agregasyon değerini %1,5 ile %9,0 arasında bulup bu çalışmadaki *Lc. lactis* suşlarından daha düşük oto-agregasyona sahiptir. Wang vd. (2012), LAB oto-agregasyonun inkübasyon süresiyle arttığını ve test edilen sekiz LAB suşundan *Lb. kefiranofaciens* HL1 en hızlı ve en büyük oto-agregasyon yeteneğini sergilerken, bunu *Len. kefir* HL2 izolatının takip ettiğini belirtmiştir. *Leu. mesenteroides* NRRL B-1149 izolatının incelendiği bir çalışmada 5. saatin sonunda oto-agregasyon %55,2 olarak bulunmuş olup bu çalışmadan yüksektir (Shukla vd., 2014). Bu çalışmada 24. saatin sonunda dahi oto-agregasyon yüzdesi %33,50 olarak bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada *Lc. lactis* izolatının 5. (%75,8) ve 24. (%100,0) saatteki oto-agregasyon yüzdesi bu çalışmada elde edilen izolatlardan yüksektir (Byakika vd., 2020).

Maya izolatlarının sonuçlarına bakıldığında bakterilere göre oto-agregasyon yeteneklerinin çok daha yüksek olduğu açıkça görülmektedir. Maya hücreleri bakterilere göre daha büyük ve yoğun olduğundan, hücrelerinin daha yüksek oranda ve daha hızlı olarak toplanmasını (oto-agregasyonu) kolaylaştırır (Hsiung vd., 2021, Shruthi vd., 2022). Sonuç olarak maya suşlarının oto-agregasyon yeteneği probiyotik bakterilerden bir adım öndedir (Shruthi vd., 2022). Çalışmada elde edilen suşların çoğu, inkübasyonun ilk 4 saati içinde hızlı oto-agregasyon sergilemiştir ve bu sonuç Hsu ve Chou (2021) tarafından yapılan çalışmayla uyumludur. 2. saatin sonunda en düşük oto-agregasyona sahip izolat %81,19 ile 540 numaralı suş olup bunu %82,57 ile 594 numaralı izolat takip etmektedir. En yüksek oto-agregasyon yüzdesine sahip izolatlar ise 571, 613, 585, 609 ve 568 numaralı izolatlar olup %93,53, %93,64, %93,65, %93,79 ve 93,83 oto-agregasyon değerlerine sahiptir. Kontrol olarak kullanılan *Sacc. boulardii* CNCM I-745 izolatının oto-agregasyon yüzdesi %86,24 olup, bu çalışmada elde edilen 540 ve 594 numaralı izolatlar hariç geri kalan izolatların hepsinden düşük oto-agregasyona sahiptir. 4. saatin sonunda ise en yüksek oto-agregasyona %94,06, %94,23, %94,64, %94,81 ve %94,97 ile 571, 568, 585, 613 ve 609 numaralı izolatlardır. %86,82, %87,95 ve %88,67 oto-agregasyon ile 594, 575 ve 510 numaralı izolatlar en düşük oto-agregasyon yüzdesine sahiptir. Kontrol olarak kullanılan maya ise %89,32 oto-agregasyon yüzdesine sahip olup, 510, 575 ve 594 numaralı izolatlar hariç diğerlerinden daha düşük oto-agregasyona sahiptir. 24. saatin sonunda ise en yüksek oto-agregasyona 604 numaralı izolat sahip olup yüzdesi %96,61 olarak bulunmuştur. En düşük yüzdeye sahip olan maya izolatları

%87,05 ve %88,70 ile 594 ve 510 numaralı izolatlardır. 24. saatin sonunda %94,37 oto-agregasyona sahip olan kontrol örneğinin oto-agregasyon yüzdesi bu çalışmada elde edilen izolatların bazısından daha yüksek oto-agregasyona sahiptir. Mayaların oto-agregasyon yüzdesinin suşa özgü olduğu önceki çalışmalarda bildirilmiş olup, farklı oto-agregasyona sahip olma nedeninin bu olduğu düşünülmektedir (Gut vd., 2019, Goktas vd., 2021b).

Hsiung vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada, *Kaza. turicensis*, *Sacc. cerevisiae*, *Kluy. marxianus*, *Kaza. unispora* ve ticari probiyotik takviyeden izole edilen *Sacc. boulardii* suşlarının 2-4 saat arasında %90 oto-agregasyona sahip olduğu görülmüştür. Yapılan başka bir çalışmada, 2.saatin sonunda ticari *Sacc. boulardii* Codex'in en yüksek oto-agregasyon değerine (%81,5) sahip olduğu, *Kluy. marxianus* izolatlarının ise %39,1-%52,8 arasında değişen oto-agregasyona sahip olduğu görülmüştür (Fadda vd., 2017). Çalışmamızda ise 2.saatin sonunda *Kluy. marxianus* izolatlarının %80'in üzerinde, kontrol olarak kullanılan *Sacc. boulardii* CNCM I-745 izolatın ise %86,24 oto-agregasyona sahip olduğu görülmüştür. Binetti vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, *Sacc. cerevisiae* ve *Kluy. marxianus* izolatlarının çoğunun orta derecede (%31,0 ile %57,0 arasında) oto-agregasyon yeteneği gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışmadaki en düşük oto-agregasyon değeri %81,19 olup Binetti vd. (2013)'nin elde ettiği değerden çok yüksektir. Goktas vd. (2021b) tarafından yapılan çalışmada, 24.saatin sonunda probiyotik *Sacc. boulardii*, *Sacc. cerevisiae*, *Kaza. unispora* ve *Kluy. marxianus* izolatlarının %97'den fazla oto-agregasyona sahip olduğu belirtilmiştir. Elde edilen sonuç, bu çalışmada elde edilen sonuçlardan yüksektir. Ticari tabletlerden izole edilen *Sacc. boulardii* izolatlarının oto-agregasyon yüzdesi 24 saatte %100'e yakın olarak bulunmuştur (Goktas vd., 2021a). Bu çalışmada kontrol olarak kullanılan *Sacc. boulardii* izolatı 24. saatin sonunda %94,37 oto-agregasyona sahip olup önceki çalışmadan daha düşüktür. Lohith ve Appaiah (2014), *Sacc. cerevisiae* maya izolatlarının oto-agregasyon yüzdesini 24. saatin sonunda yaklaşık %84 olarak bulmuş ve elde edilen sonuç bu çalışmadaki sonuçlardan daha düşüktür.

Çalışmada kullanılan bakteri ve maya suşlarına ait ko-agregasyon değerleri Tablo 32 ve Tablo 33'de sunulmuştur.

Tablo 32. Bakteri İzolatlarının Ko-agregasyon Yüzdeleri

İzolat no	Ko-agregasyon (%)											
	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644			<i>S. Typhimurium</i> RSSK 95091			<i>S. aureus</i> ATCC 29213			<i>E. coli</i> ATCC 25922		
	2st	4st	5st	2st	4st	5st	2st	4st	5st	2st	4st	5st
5	3,50±1,13	8,05±0,41	10,22±1,98	1,13±0,80	4,58±0,07	6,63±1,51	2,18±1,94	9,97±0,39	11,62±3,07	3,48±1,30	5,51±0,06	6,13±1,97
6	8,22±2,31	10,54±1,48	12,83±2,60	1,85±0,47	1,95±0,09	2,03±0,71	8,31±1,59	14,66±0,08	15,47±1,06	3,41±1,31	7,20±0,44	8,97±1,93
8	5,56±2,10	8,81±1,39	9,34±1,57	1,17±0,70	5,08±1,69	6,10±2,27	3,76±1,79	12,36±0,89	17,89±2,05	0,21±0,18	7,54±1,99	11,08±0,84
14	10,64±1,17	15,48±0,18	19,47±1,37	10,02±1,70	13,79±0,27	16,34±3,08	13,75±2,29	19,86±0,22	21,16±0,66	9,92±3,16	11,66±1,79	15,39±1,30
22	7,35±0,84	11,84±0,83	13,05±2,77	19,04±1,45	22,72±1,10	23,57±2,71	22,04±1,77	28,53±0,34	30,65±2,06	16,26±2,28	20,27±0,23	21,61±2,53
23	7,23±2,35	12,44±0,31	14,68±2,44	12,85±5,04	13,22±0,10	14,76±2,31	8,24±2,50	10,67±1,52	12,72±3,48	7,26±1,99	10,48±1,32	17,14±2,70
34	20,90±1,26	34,73±5,02	41,57±1,99	26,98±2,08	46,19±2,00	49,71±2,24	18,36±2,66	31,22±2,95	36,18±3,88	11,58±1,53	34,50±4,65	38,75±2,76
44	9,87±0,85	14,96±2,06	19,20±6,13	5,84±3,49	7,90±1,75	9,47±2,59	9,81±2,63	15,86±1,68	17,12±1,58	5,35±2,71	9,84±1,16	10,16±2,37
47	21,41±2,65	47,16±0,41	56,88±1,53	25,06±5,10	46,15±2,56	49,91±1,58	31,03±3,87	38,57±0,46	41,58±1,56	24,53±2,54	39,91±0,71	43,79±1,33
55	13,10±1,83	23,02±4,01	33,13±5,76	8,87±3,13	16,79±1,49	22,13±1,85	11,78±2,48	18,54±1,41	21,58±0,84	10,32±3,95	14,11±1,51	15,42±0,81
56	12,73±2,22	16,67±0,37	19,25±1,18	5,21±1,45	8,15±0,22	9,78±1,76	9,41±1,23	15,95±1,15	16,60±2,52	8,43±0,84	10,38±0,21	12,45±2,06
59	50,07±3,66	54,93±1,85	56,64±1,45	55,95±0,70	59,10±4,08	62,21±0,73	42,15±0,82	46,68±1,07	48,86±1,62	49,55±2,14	57,68±1,69	58,40±0,99
74	1,90±0,30	5,36±1,22	7,73±2,74	5,59±0,26	10,78±1,30	10,05±1,94	6,13±1,89	12,60±3,56	20,92±1,47	6,07±1,06	7,71±1,71	9,34±2,66
75	5,87±1,29	6,72±3,89	11,90±3,33	1,85±0,93	5,26±1,41	10,51±3,17	6,07±2,51	8,40±1,91	28,66±1,72	6,90±2,30	8,61±1,64	15,63±3,50
76	3,74±1,48	7,32±3,10	8,76±1,36	1,01±0,63	3,38±1,12	4,35±1,59	4,18±1,26	6,35±1,24	9,01±0,76	1,48±0,28	6,85±1,09	7,53±1,05
77	44,10±1,52	50,13±4,52	54,78±1,12	52,89±1,91	57,52±0,60	59,12±0,85	34,76±1,07	44,14±3,06	46,79±1,53	41,22±0,85	50,09±1,16	53,56±1,17
87	27,07±2,17	42,24±4,93	50,90±0,77	30,46±2,24	46,58±3,55	53,10±2,27	22,53±2,16	36,55±0,56	46,37±1,02	27,14±1,27	34,04±2,40	38,20±2,76
88	9,68±1,64	15,67±0,79	17,82±1,67	13,05±2,51	14,96±1,12	17,29±1,54	13,13±3,89	14,94±2,78	17,60±1,18	14,71±0,87	16,49±3,66	21,40±2,95
98	18,14±1,20	23,21±1,13	27,71±2,77	18,27±1,76	24,69±0,92	29,65±1,27	9,28±1,94	17,29±2,13	23,38±1,25	13,91±1,15	19,96±2,50	22,63±3,27
110	36,21±3,68	51,59±1,79	52,23±4,75	16,50±3,52	37,66±0,81	46,29±2,31	20,48±2,61	39,44±2,07	45,31±1,46	21,66±2,21	42,36±1,64	51,30±1,17
111	7,79±0,76	10,38±1,74	13,45±1,59	2,28±1,27	4,84±1,63	6,58±0,65	11,15±1,01	13,20±2,38	15,60±1,53	4,68±0,53	6,53±1,49	13,81±2,17
117	14,12±1,61	21,47±4,11	23,27±4,53	9,54±2,40	15,21±1,08	17,54±1,11	11,44±1,85	18,76±1,99	21,30±2,47	20,35±2,34	24,29±2,35	28,74±1,11
<i>Lcb. casei</i> ATCC 393	6,99±1,76	11,66±3,76	15,00±7,31	6,33±0,24	7,83±2,72	17,51±1,32	8,63±0,17	9,78±1,97	17,42±1,33	4,43±2,18	5,20±1,62	11,12±2,56
<i>Lcb. casei</i> strain Shirota	3,52±1,07	10,41±0,76	12,36±1,16	3,88±1,60	4,88±1,75	10,58±1,75	2,16±0,59	7,49±1,35	8,45±0,81	0,60±0,13	2,36±1,34	5,50±1,28

Tablo 32. Devamı

İzolat no	Ko-agregasyon (%)											
	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644			<i>S. Typhimurium</i> RSSK 95091			<i>S. aureus</i> ATCC 29213			<i>E. coli</i> ATCC 25922		
	2st	4st	5st	2st	4st	5st	2st	4st	5st	2st	4st	5st
202	13,87±2,57	14,20±0,81	15,48±0,10	3,66±1,43	17,41±4,76	21,52±0,14	8,23±1,35	9,67±1,21	10,94±0,45	2,74±0,44	9,72±1,94	13,78±2,27
203	7,31±1,04	10,65±1,57	14,27±1,39	4,94±2,37	10,04±1,13	12,84±0,51	2,54±1,08	8,16±0,54	10,45±1,41	6,43±2,11	11,30±1,34	15,47±1,13
204	1,06±0,13	8,26±1,26	9,32±0,91	1,64±0,44	5,19±1,97	6,49±1,99	3,87±0,60	3,84±0,24	4,08±0,16	3,64±1,46	10,75±0,14	11,63±0,82
205	1,07±0,35	9,53±1,16	18,10±2,78	4,85±1,73	8,37±2,11	9,43±1,48	5,34±1,78	6,11±0,40	7,37±0,46	6,65±1,47	11,01±2,01	14,12±1,31
206	7,00±0,45	11,96±4,77	12,99±1,86	3,44±0,74	11,15±2,36	12,13±1,67	2,60±0,83	4,93±1,43	7,06±1,33	7,53±0,88	9,12±2,64	13,35±1,78
207	7,34±1,41	16,29±0,48	17,17±0,42	8,63±0,83	10,76±0,81	11,76±1,01	0,86±0,24	5,82±2,72	7,41±0,25	9,71±1,58	11,21±3,58	16,56±2,27
246	6,51±1,47	6,70±0,92	11,06±0,71	7,83±1,84	11,39±2,12	11,77±1,07	12,51±1,16	14,06±1,06	16,50±1,10	9,74±1,85	12,29±3,21	16,86±1,66
247	3,30±1,46	10,98±4,09	16,88±2,07	5,14±1,80	13,67±2,97	19,04±2,43	8,28±1,93	9,38±2,49	13,23±2,45	7,77±0,82	10,22±2,44	14,07±1,13
249	3,73±1,74	5,56±0,62	10,64±3,20	3,89±1,07	4,05±0,36	9,58±3,11	3,88±1,58	7,24±1,92	14,37±3,76	11,18±1,50	14,11±1,75	20,22±3,93
250	2,11±0,89	7,98±1,39	10,90±1,15	6,04±1,15	9,47±1,18	12,77±0,63	0,78±0,06	1,38±0,77	5,47±0,36	10,24±2,14	11,78±2,99	15,11±1,11
252	4,92±0,88	6,17±0,32	6,55±0,09	10,84±1,65	14,25±2,74	15,53±2,60	2,65±0,90	3,05±0,51	4,28±0,25	4,99±1,27	10,83±2,98	15,39±2,32
253	5,41±0,58	9,45±2,62	14,06±1,07	12,38±1,98	9,39±1,95	12,22±1,63	5,74±1,59	9,26±2,48	15,35±3,24	9,19±1,55	14,01±1,09	21,12±1,66
255	2,22±0,65	6,33±0,76	11,41±3,29	4,12±0,48	6,94±0,98	11,35±1,52	7,60±2,86	7,96±1,15	11,88±0,75	11,81±1,70	15,01±1,67	19,63±2,00
286	19,54±0,47	20,10±2,17	22,23±3,00	9,45±0,88	16,59±4,60	17,38±3,59	1,07±0,34	5,33±1,52	7,44±0,64	11,48±4,11	19,44±1,85	23,90±2,16
294	8,62±1,14	16,94±2,22	23,32±1,03	35,44±3,33	45,05±2,21	46,28±0,30	9,93±2,06	18,44±1,12	18,79±0,53	22,16±1,27	27,70±0,94	30,36±2,42
297	7,84±0,76	18,14±2,04	19,46±1,18	32,58±2,18	37,65±1,87	37,72±0,27	11,01±0,28	14,68±3,41	18,84±2,13	23,06±0,96	26,66±0,86	28,85±1,32
299	11,94±1,78	14,33±1,67	14,90±0,47	22,90±0,41	23,18±1,36	24,14±0,14	12,60±4,95	16,67±1,82	18,02±1,79	13,77±0,13	16,76±2,17	22,16±1,59
475	4,56±1,30	4,86±0,51	5,18±0,63	2,93±1,70	3,67±1,91	5,04±1,12	3,04±1,54	3,97±0,14	5,23±0,79	2,89±0,71	4,06±1,47	4,59±0,90
482	10,18±0,88	10,55±0,81	17,19±2,85	6,80±2,69	10,04±1,83	14,40±2,38	4,23±1,89	5,04±1,97	12,13±3,78	14,63±1,03	16,99±2,77	20,59±3,34

Tablo 33. Maya İzolatlarının Ko-agregasyon Yüzdeleri

İzolat no	Ko-agregasyon (%)											
	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644			<i>S. Typhimurium</i> RSSK 95091			<i>S. aureus</i> ATCC 29213			<i>E. coli</i> ATCC 25922		
	2st	4st	5st	2st	4st	5st	2st	4st	5st	2st	4st	5st
502	75,46±5,27	76,76±2,35	79,06±0,50	69,66±2,64	69,93±1,30	70,06±1,24	39,50±6,11	41,03±4,96	43,34±1,40	65,95±3,96	66,13±1,24	66,31±1,19
506	74,04±1,23	74,80±1,22	78,01±0,81	64,00±1,18	64,64±1,17	66,06±1,00	22,66±2,87	28,19±1,93	35,81±2,85	60,52±1,48	62,86±1,59	64,89±1,30
510	61,49±4,76	64,45±1,79	68,70±1,08	47,41±6,71	51,52±1,86	54,15±1,72	35,24±3,19	40,71±5,46	41,31±1,13	33,95±2,72	37,81±1,83	38,29±0,66
517	82,74±4,47	83,73±1,34	85,40±0,53	67,12±3,76	70,84±1,42	71,99±0,22	37,08±6,63	37,80±1,19	50,33±2,31	67,31±2,95	69,63±3,69	72,99±0,65
524	81,91±5,42	83,85±1,49	86,23±1,10	67,77±8,18	75,11±2,47	78,00±1,12	38,94±8,24	39,49±8,74	46,13±1,52	64,13±8,01	68,64±3,42	73,77±1,61
529	74,50±1,27	76,39±0,26	79,32±0,76	70,56±1,74	73,31±0,89	77,63±0,30	33,62±6,28	36,30±3,01	41,42±1,05	66,78±5,01	72,36±0,66	75,07±0,48
540	54,62±5,95	65,53±5,51	67,22±4,28	36,98±2,58	54,33±3,37	54,47±2,13	31,12±4,70	51,73±2,47	53,21±1,76	33,99±4,95	40,65±4,91	40,99±1,78
543	66,46±1,08	66,53±0,52	68,30±1,06	50,31±3,43	54,21±0,52	54,51±0,50	34,27±2,88	42,34±3,75	43,80±2,87	40,70±2,04	40,82±0,27	48,13±0,41
548	79,57±1,31	82,40±1,04	82,86±0,99	78,69±1,44	78,89±1,02	79,10±0,99	46,10±3,05	50,32±2,33	55,03±1,30	73,19±1,27	73,65±0,58	75,12±1,47
568	81,04±0,25	81,07±0,48	83,40±0,27	75,23±1,09	76,16±1,14	78,30±0,24	38,45±4,10	40,28±5,78	51,44±0,88	67,01±0,42	69,89±0,96	71,83±0,42
571	77,01±0,91	78,44±0,81	79,82±0,70	69,53±0,60	71,57±1,15	72,89±0,98	31,87±2,23	34,96±1,50	43,37±2,27	63,87±0,98	64,68±0,37	67,28±1,68
575	80,67±0,34	81,69±0,63	81,84±0,56	72,78±0,20	73,35±1,68	77,63±0,70	46,00±0,65	49,61±2,57	49,76±0,36	68,94±0,73	69,26±1,66	73,32±1,89
583	81,27±0,47	82,05±0,84	83,17±0,59	70,23±1,17	70,79±1,22	73,67±2,60	41,23±1,18	43,63±3,12	45,73±1,67	68,26±1,40	68,42±1,21	77,42±0,77
585	66,01±1,48	67,60±0,63	67,70±0,55	44,57±2,52	49,56±4,93	50,68±0,44	37,15±4,88	40,69±1,70	41,30±2,40	41,01±0,65	41,37±0,93	42,15±1,33
590	62,67±1,19	62,79±0,84	65,25±0,86	48,17±2,72	48,77±0,81	52,51±4,16	32,12±3,72	35,65±2,77	38,49±2,68	34,32±1,40	34,59±1,26	35,09±1,02
594	61,12±1,80	61,30±1,78	62,28±1,07	41,89±1,65	41,96±0,53	45,72±3,95	26,25±2,90	34,93±4,18	35,26±1,24	28,15±1,80	28,80±1,45	29,38±0,87
597	57,13±5,41	62,30±1,36	63,12±1,54	34,77±3,11	43,98±0,65	44,16±0,83	32,65±5,10	38,57±7,50	38,80±1,11	33,87±2,76	37,86±1,81	39,71±4,66
601	58,35±5,82	60,48±3,43	61,43±3,01	36,19±4,69	39,57±3,87	39,79±2,68	30,36±4,66	37,69±4,89	38,26±1,56	31,24±6,67	37,01±2,18	37,72±1,90
604	63,78±4,34	65,05±3,32	65,67±0,73	41,83±5,52	47,88±1,42	48,06±1,83	36,56±8,70	38,96±4,71	39,94±1,57	36,55±2,64	40,77±3,29	41,68±1,65
607	58,14±8,14	63,17±2,01	63,89±0,68	40,09±3,62	44,19±2,13	46,42±2,93	34,41±4,57	43,75±6,27	45,43±1,54	34,10±3,73	37,30±4,55	37,46±0,27
609	59,78±4,30	61,22±3,38	61,63±2,04	32,07±6,43	36,31±5,00	36,45±4,95	30,20±3,09	31,59±4,93	32,40±2,23	29,94±5,84	31,53±6,53	32,22±4,05
613	58,21±3,17	62,71±1,04	62,91±0,82	34,27±2,85	38,23±1,50	38,59±1,45	31,33±7,71	32,27±7,35	33,34±3,75	29,70±3,01	31,56±3,16	32,74±2,71
614	59,60±6,68	66,94±2,43	67,10±0,61	41,16±3,09	46,25±0,81	46,80±1,15	35,57±3,47	36,29±0,88	40,12±1,83	43,74±2,42	63,22±4,70	64,40±0,89
618	63,90±3,10	64,55±1,47	66,51±2,02	50,91±2,73	51,44±1,45	52,24±1,20	36,09±2,88	38,58±6,23	42,42±6,32	32,60±2,72	36,44±0,62	37,75±0,56
624	62,03±2,16	63,18±1,23	64,74±0,78	49,99±1,39	50,06±0,27	50,74±0,51	37,32±1,25	39,31±5,48	41,12±3,81	37,42±1,35	38,45±1,03	38,69±0,50
Sacc. boulardi CNCM I-745	33,29±2,84	39,45±0,44	44,47±2,10	35,60±2,58	42,34±1,62	48,81±3,66	47,34±3,05	51,00±3,06	54,67±0,52	32,68±3,13	40,44±0,86	45,35±1,82

Muhtemel probiyotik bakteri izolatlarının ko-agregasyon yetenekleri 2. saatin sonunda incelendiğinde, *L. monocytogenes* ATCC 7644 patojeni üzerinde %1,06 ile %50,07; *S. Typhimurium* RSSK 95091 patojeni üzerinde %1,01 ile %55,95; *S. aureus* ATCC 29213 patojeni üzerinde %0,78 ile %42,15; *E. coli* ATCC 25922 patojeni üzerinde %0,21 ile %49,55 arasında değiştiği tespit edilmiştir. 2. saatin sonunda tüm patojenlere karşı en yüksek ko-agregasyon yeteneğine sahip izolat 59 numaralı izolattır. 4. saatin sonunda ko-agregasyon yeteneği incelendiğinde, *L. monocytogenes* ATCC 7644 patojeni üzerinde %4,39 ile %54,93; *S. Typhimurium* RSSK 95091 patojeni üzerinde %1,95 ile %59,10; *S. aureus* ATCC 29213 patojeni üzerinde %1,38 ile %46,68; *E. coli* ATCC 25922 patojeni üzerinde %4,06 ile %57,68 arasında değiştiği bulunmuştur. 59 numaralı izolatın 4. saat sonunda yine en yüksek ko-agregasyon yüzdesine sahip olduğu bulunmuştur. 5. saatin sonunda ise ko-agregasyon yeteneği incelendiğinde, *L. monocytogenes* ATCC 7644 patojeni üzerinde %5,18 ile %56,88; *S. Typhimurium* RSSK 95091 patojeni üzerinde %2,03 ile %62,21; *S. aureus* ATCC 29213 patojeni üzerinde %4,08 ile %48,86; *E. coli* ATCC 25922 patojeni üzerinde %4,59 ile %58,40 arasında değiştiği bulunmuştur. 5. saatin sonunda *L. monocytogenes* ATCC 7644 patojeni için 47 numaralı izolat; *S. Typhimurium* RSSK 95091, *S. aureus* ATCC 29213 ve *E. coli* ATCC 25922 patojenleri için 59 numaralı izolat en yüksek ko-agregasyon yeteneğine sahiptir (Tablo 32). Kontrol olarak kullanılan *Lcb. casei* strain Shirota, *Lcb. casei* ATCC 393 izolatlarının ko-agregasyon yüzdesi bu çalışmada elde edilen bakteri izolatlarının çoğuna göre 2., 4., ve 5. saatlerde daha düşüktür.

Genel olarak çalışmanın sonuçlarına bakıldığında, Abushelaibi vd. (2017) tarafından elde edilen sonuçlardan daha yüksek ko-agregasyon yüzdesine sahip olduğu görülmektedir. Wang vd. (2012) yapmış olduğu çalışmada *Lc. lactis* HL4, *Lb. kefiranofaciens* HL1, *Len. kefir* HL2 ve *Leu.. mesenteroides* HL3 izolatlarının yüksek ko-agregasyon değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Byakika vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada, *Lc. lactis* izolatının 5. saatin sonunda ko-agregasyon yüzdesi *Escherichia coli* ATCC 25922 için %16,22, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 için %13,8 ve *Salmonella enterica* için %23,8 olarak bulunmuştur. Bu çalışmadaki *Lc. lactis* suşlarının bazılarının ko-agregasyon değeri yüksek (294 numaralı izolat) iken bazılarının düşüktür (475 numaralı izolat).

Muhtemel probiyotik maya izolatlarının ko-agregasyon yetenekleri incelendiğinde bakterilere göre yüksek ko-agregasyon yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. 2. saatin sonunda ko-agregasyon yeteneği incelendiğinde, *L. monocytogenes* ATCC 7644 patojeni üzerinde %54,62 ile %82,74; *S. Typhimurium* RSSK 95091 patojeni üzerinde %32,07 ile %78,69; *S. aureus* ATCC 29213 patojeni üzerinde %22,66 ile %46,10; *E. coli* ATCC 25922

patojeni üzerinde %28,15 ile %73,19 arasında değiştiği tespit edilmiştir. 2. saatin sonunda tüm patojenlere karşı en yüksek ko-agregasyona sahip izolat *L. monocytogenes* ATCC 7644 için 517 numaralı izolat; *S. Typhimurium* RSSK 95091, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 29213 için 548 numaralı izolattır. 4. saatin sonunda ko-agregasyon yeteneği incelendiğinde, *L. monocytogenes* ATCC 7644 patojeni üzerinde %60,48 ile %83,85; *S. Typhimurium* RSSK 95091 patojeni üzerinde %36,31 ile %78,89; *S. aureus* ATCC 29213 patojeni üzerinde %28,19 ile %51,73; *E. coli* ATCC 25922 patojeni üzerinde %28,80 ile %73,65 arasında değiştiği bulunmuştur. 524 numaralı izolat *L. monocytogenes* ATCC 7644 için, 548 numaralı izolat *S. Typhimurium* RSSK 95091 ve *E. coli* ATCC 25922 için ve 540 numaralı izolat *S. aureus* ATCC 29213 için 4. saat sonunda en yüksek ko-agregasyon yeteneğine sahip olduğu görülmüştür. 5. saatin sonunda ise ko-agregasyon yeteneği incelendiğinde, *L. monocytogenes* ATCC 7644 patojeni üzerinde %61,43 ile %86,23 *S. Typhimurium* RSSK 95091 patojeni üzerinde %36,45 ile %79,10; *S. aureus* ATCC 29213 patojeni üzerinde %32,40 ile %55,03; *E. coli* ATCC 25922 patojeni üzerinde %32,22 ile %77,42 arasında değiştiği bulunmuştur. 5. saatin sonunda *L. monocytogenes* ATCC 7644 patojeni için 524 numaralı izolat; *S. Typhimurium* RSSK 95091 ve *S. aureus* ATCC 29213 patojenleri için 548 numaralı izolat ve *E. coli* ATCC 25922 patojeni için 583 numaralı izolat en yüksek ko-agregasyon yeteneğine sahiptir (Tablo 31). Genel olarak sonuçlara bakıldığında, *Sacc. boulardi* CNCM I-745 kontrol suşunun ko-agregasyon yüzdesi bu çalışmada elde edilen mayalara göre daha düşük olup bu durum tüm patojenler ve tüm saatler için geçerlidir.

Binetti vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, *E. coli* ve *S. enteritidis* için elde ettiği ko-agregasyon yüzdeleri bu çalışmadakinden yüksektir. Bir başka çalışmada ise *S. turicensis* HY2 maya izolatının yüksek ko-agregasyona sahip olduğu bulunmuştur (Wang vd., 2012).

Hidrofobisite

Hidrofobiklik, bir maddenin sulu bir ortam yerine susuz bir ortamı tercih etme eğiliminin bir ölçüsü olup, polar olmayan bileşiklerin su gibi polar özellikteki ortam ile arasındaki itme kuvvetini ifade eder (Konak vd., 2014, Byakika vd., 2020). Mikrobiyal hücre yüzeyinin hidrofobik yapısı, bağırsak yüzeyine tutunmasını sağlar (Byakika vd., 2020). Bakterilerin kendi kendine toplanma yeteneği ve yüzey hidrofobikliği iki bağımsız özellik olup, bunların belirlenmesi bakterilerin yapışma yeteneğinin değerlendirilmesi için dolaylı bir yöntem olarak önerilmiştir (Rahman vd., 2008). Hidrofobiklik, mikrobiyal hücrelerin yüzeyindeki negatif ve pozitif yüklü hidrofobik ve hidrofilik bileşenler arasındaki karmaşık etkileşimler nedeniyle oluşur (Hsiung vd., 2021). Bakteriyel hidrofobiklik, bakteri türüne, bakteri üremesine çevrenin etkisine, bakterinin yaşına ve bakterinin yüzey yapısına bağlı olarak

değişiklik göstermektedir (Akpınar ve Yerlikaya, 2021). İzolatların hidrokarbonlara yapışma yeteneğini belirlemek için yüzey hidrofobik testi yapılmaktadır (Hsiung vd., 2021). Bu çalışmada LAB izolatları ve mayalar hidrokarbonlara karşı dikkate değer yüzdelerde hidrofobiklik göstermiştir. Ksilen, n-heksan, ve tolüene karşı hidrofobiklik bakteriler için Tablo 34'de, mayalar için Tablo 35'de gösterilmiştir.

Bakteri izolatlarının hidrofobisite yetenekleri incelendiğinde, ksilen, n-heksan ve tolüen için en düşük hidrofobisite yetenekleri sırasıyla %2,72, %2,19 ve %2,59 olup, 34, 110 ve 246 numaralı izolatlarda gözlenmiştir (Tablo 34). Ksilen, n-heksan ve tolüen için en yüksek hidrofobisite yetenekleri ise %88,29, %82,30 ve %91,04 olup; bu yeteneğe sahip suşlar sırasıyla 88, 44 ve 59 numaralı bakterilerdir. Kontrol olarak kullanılan bakterilerin ksilen için hidrofobisite yetenekleri %2,70 ve %7,30, n-heksan için %8,66 ve %9,53 ve tolüen için %17,60 ve %9,24 olarak bulunmuş olup genel olarak hidrofobisite yetenekleri bu çalışmadaki suşların hidrofobisitesinden düşüktür.

Yapılan bir çalışmada Iso76 kodlu *Lc. lactis* izolatının ksilene karşı hidrofobiklik %57,8 olup bu çalışmadaki *Lc. lactis* izolatları nispeten daha düşük hidrofobiklik sergilemiştir (Abushelaibi vd., 2017). Lee vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada, *Lc. lactis* izolatının ksilen için hidrofobisite değeri %18,44 olup, bu çalışmadaki *Lc. lactis* suşlarının çoğundan oldukça düşük olduğu görülmektedir. Yine *Lc. lactis* izolatının probiyotikliğinin incelendiği bir çalışmada, ksilene karşı %5,5 ve tolüene karşı %5,9 hidrofobisite gösterdiği ve bu sonucun bu çalışmaya göre düşük olduğu görülmektedir (Byakika vd., 2020). Kefir LAB suşlarının araştırıldığı bir çalışmada, *Lb. kefiranofaciens* HL1 ve *Len. kefiri* HL2'in yüksek hidrofobikliğe sahip olduğu, *Lc. lactis* HL4 ve *Leu. mesenteroides* HL3 izolatlarının ise hidrofilik olduğu belirtilmiştir (Wang vd., 2012). Yapılan çalışmalarda *Leu. mesenteroides* suşlarının hidrofobiklik yüzdesi, %42,9 ve %5,11 ile %90,92 arasında değiştiği ve bu çalışmada elde edilen sonuçtan oldukça yüksek olduğu bulunmuştur (Shukla vd., 2014, Akpınar ve Yerlikaya, 2021).

Tablo 34. Bakteri İzolatlarının Hidrofobisite Yüzdeleri

İzolat No	Hidrofobisite (%)			İzolat No	Hidrofobisite (%)		
	Ksilen	n-Heksan	Tolüen		Ksilen	n-Heksan	Tolüen
5	33,56±14,38	36,45±2,70	59,88±2,80	202	27,89±1,31	7,67±1,88	32,14±2,21
6	39,76±15,40	54,16±2,56	55,84±19,87	203	41,28±4,42	26,90±3,59	68,02±1,90
8	41,76±1,99	50,16±1,58	46,11±4,07	204	17,95±2,51	13,34±1,27	19,45±1,48
14	86,47±0,78	59,21±1,51	82,56±10,51	205	25,70±3,28	19,57±1,20	41,31±0,39
22	35,10±4,17	21,01±6,49	39,39±7,51	206	15,04±3,37	17,71±2,63	37,58±2,79
23	38,94±7,01	63,63±1,27	44,69±14,30	207	22,38±3,03	26,07±0,99	46,05±2,17
34	82,25±2,93	76,13±2,34	88,35±0,54	246	2,72±1,21	3,48±0,58	2,79±1,09
44	83,53±5,49	82,30±1,07	85,53±1,99	247	6,74±2,65	6,41±1,69	12,14±0,84
47	54,56±2,71	12,42±1,39	61,43±2,92	249	24,88±1,84	13,48±0,50	23,72±2,73
55	72,51±9,24	78,30±1,28	78,82±10,63	250	10,88±3,01	9,40±1,74	10,53±2,52
56	76,33±5,33	64,75±0,99	88,13±1,04	252	5,73±0,72	8,70±1,34	12,34±0,39
59	85,09±5,26	72,93±4,02	91,04±2,86	253	84,58±2,21	44,58±3,88	82,10±0,58
74	7,64±3,20	13,42±5,23	13,44±5,72	255	74,87±7,54	27,38±2,60	90,05±2,40
75	29,20±6,51	27,13±3,39	80,54±0,93	286	83,45±1,72	83,27±0,85	81,62±3,85
76	59,28±15,39	37,86±4,26	74,15±11,56	294	74,55±1,11	79,10±1,25	85,83±1,71
77	77,89±3,70	65,84±13,94	80,36±7,96	297	42,47±2,25	33,06±2,91	46,30±3,08
87	72,26±1,81	69,02±2,91	76,95±4,62	299	14,25±4,42	45,23±5,32	62,77±6,66
88	88,29±2,11	71,86±0,62	89,89±2,73	475	6,10±0,47	4,20±1,78	2,57±0,53
98	70,12±10,15	81,75±1,06	81,56±2,40	482	56,47±1,60	36,08±4,07	64,32±4,07
110	51,36±4,42	2,19±0,01	42,29±1,84				
111	84,34±0,25	63,53±0,19	86,35±0,26				
117	10,19±0,04	12,57±0,05	6,22±0,02				
<i>Lcb. casei</i> ATCC 393	2,70±1,63	8,66±0,91	17,60±1,73				
<i>Lcb. casei</i> strain Shirota	7,30±2,32	9,53±0,91	9,24±1,53				

Maya izolatlarının hidrofobisite yetenekleri incelendiğinde ise ksilen, n-heksan ve tolüen için en düşük hidrofobisite yetenekleri sırasıyla %1,15 (540 numaralı izolat), %1,57 (548 numaralı izolat) ve %0,51 (548 numaralı izolat) olup, en yüksek hidrofobisite yeteneği ise sırasıyla %89,07 (571 numaralı izolat), %89,82 (571 numaralı izolat) ve %88,38 (618 numaralı izolat) olarak bulunmuştur. Hsiung vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada, *Kaza. turicensis* JYC2613 izolatu en yüksek *Sacc. cerevisiae* JYC2619 izolatu en düşük hidrofobosite göstermiştir. Ayrıca dokuz suşun hücre yüzeyi hidrofobikliği *Sacc. boulardii* izolatından önemli ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu çalışmaya bakıldığında ise en yüksek hidrofobisiteyi *Sacc. cerevisiae* 571 ve *Kluy. marxianus* 618 numaralı izolatlar göstermiştir. Yapılan başka bir çalışmada en yüksek hidrofobisite değeri *Sacc. cerevisiae* L1'e (%80,1) ait olup, baskın tür *Kluy. marxianus* için en yüksek değer (%72,5) L9 suşundan elde edilmiştir. Alınan sonuç bu çalışmaya benzerdir (Binetti vd., 2013). *Sacc. cerevisiae*, *Kluy. marxianus* ve *Kaza. unispora* maya suşlarının aralarında bulunduğu bir çalışmada, hidrofobiklik yüzdesinin %1,7 ile %61,1 arasında değiştiği ve bu değerlerin sırasıyla *Sacc. cerevisiae* ve *Kluy. marxianus* suşlarına ait olduğu belirlenmiştir (Goktas vd., 2021b). Ticari *Sacc. boulardii* izolatlarının incelendiği bir çalışmada en düşük hidrofobisite (%0,99) ksilende gözlenmiştir (Goktas vd., 2021a). Hsu ve Chou (2021) tarafından yapılan çalışmada, *Kluy. marxianus* JYC2557 izolatu ksilen için en yüksek hidrofobikliği (%79,4) gösterirken, *Sacc. cerevisiae* JYC2535 en düşük hidrofobisiteyi (%6,61) göstermiştir

Tablo 35. Maya İzolatlarının Hidrofobisite Yüzdeleri

İzolat no	Hidrofobisite (%)		
	Ksilen	n-Heksan	Tolüen
502	36,74±2,31	50,62±4,26	5,30±1,05
506	2,38±0,86	12,13±2,44	3,41±0,84
510	7,50±1,31	17,19±3,27	10,69±0,97
517	13,19±3,71	16,16±3,65	11,10±1,91
524	4,16±0,84	14,45±0,27	4,99±1,94
529	3,89±0,93	2,80±0,81	2,26±0,75
540	1,15±0,53	9,30±0,76	2,04±0,75
543	12,97±0,44	34,07±2,87	38,69±4,94
548	5,58±0,85	1,57±0,43	0,51±0,21
568	32,93±1,27	47,47±7,93	42,68±1,02
571	89,07±3,31	89,82±3,41	82,20±6,89
575	5,98±1,40	1,65±0,15	6,08±0,75
583	29,37±1,74	25,12±0,10	9,62±2,27
585	26,00±5,59	85,15±1,81	72,16±4,13
590	24,16±1,86	34,68±1,86	31,93±4,69
594	83,71±4,12	74,35±4,24	69,65±4,73
597	25,59±4,60	35,40±4,94	28,72±4,46
601	21,75±4,63	27,61±2,01	41,45±3,47

Tablo 35. Devamı

İzolat no	Hidrofobisite (%)		
	Ksilen	n-Heksan	Tolüen
604	13,39±5,10	16,35±5,99	18,34±4,03
607	16,93±3,67	19,64±5,53	15,59±3,89
609	61,57±5,36	69,47±2,60	68,67±3,54
613	64,38±4,45	75,28±1,09	80,16±2,40
614	28,65±4,20	36,72±3,58	31,71±3,26
618	63,35±3,90	80,49±2,36	88,38±0,75
624	86,42±3,31	12,48±2,62	84,31±2,68
<i>Sacc. boulardi</i> CNCM I-745	2,10±0,68	12,37±0,95	2,78±1,16

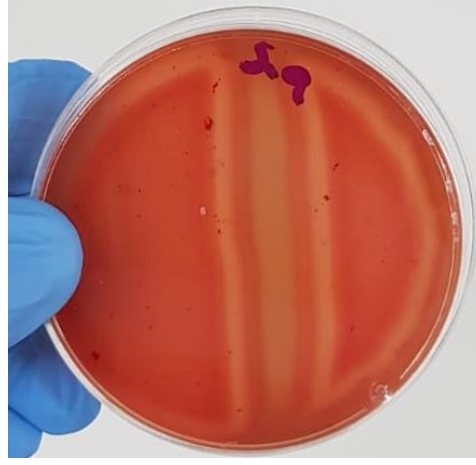
Hemolitik aktivite

Hemoliz, patojen mikroorganizmalar arasında bilinen bir virülans faktörü olup, mikroorganizmanın demir kullanımını kolaylaştırarak konakçıda anemi ve ödeme neden olmaktadır (Hsiung vd., 2021, Rahmani vd., 2022). Patajonik organizmalar eritrositlerin zarlarına zarar vererek onları parçalayan hemolizinler salgırlar (Lim vd., 2019) Mikrobiyal suşların hemolitik aktivitesi, probiyotik suşların seçimi sırasında yaygın olarak değerlendirilen güvenlik kriterleri arasındadır (Rahmani vd., 2022, Ntiantiasi ve Lianou, 2023). Hemolitik aktivite, potansiyel patojenitenin bir göstergesi olarak kabul edilir ve bu nedenle hemoliz sergileyen mikrobiyal izolatlar potansiyel probiyotik olarak değerlendirilemez (Ntiantiasi ve Lianou, 2023).

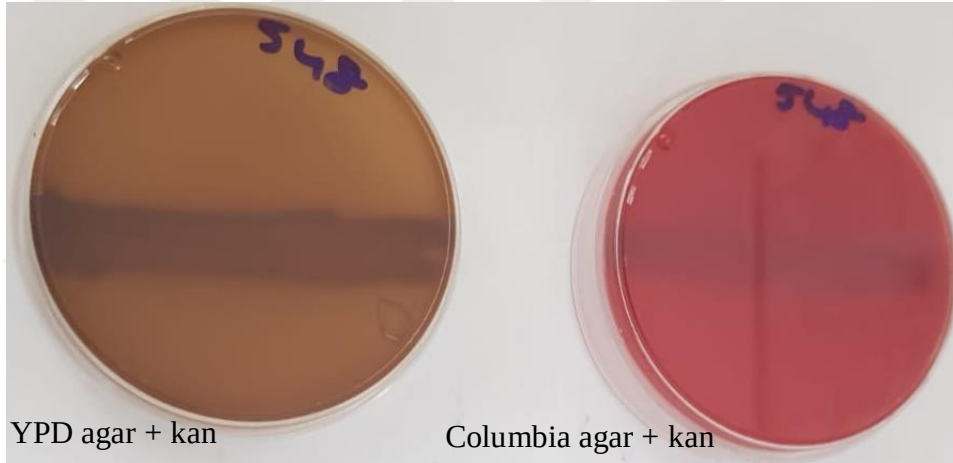
Hemolitik aktivite açısından incelenen tüm bakteri ve maya izolatlarının hemolitik aktiviteye sahip olmadığı bulunmuştur. Bu sonuçların literatüre bakıldığında da uyumlu olduğu görülmektedir (Angmo vd., 2016, Bennani vd., 2017, Rezaei vd., 2020). Leite vd. (2015), *Leu. mesenteroides* ve *Lc. lactis* suşlarının hemolitik aktiviteye sahip olmadığını bulmuştur. Yine başka bir çalışmada, *Sch. harbinensis* izolatının hemolitik negatif olduğu gösterilmiştir (Agostini vd., 2018). *Sacc. cerevisiae*, *Kaza. turicensis*, *Kluy. marxianus* ve *Kaza. unispora* maya izolatlarının herhangi bir hemolitik aktiviteye sahip olmadığı bulunmuştur (Fadda vd., 2017, Hsiung vd., 2021). Kefirden izole edilen *Kluy. marxianus* ve *Sacc. unisporus* izolatlarının hemolitik aktivitesinin negatif olduğu Lim vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada da rapor edilmiştir.

Şekil 21’de bu deneyde kontrol olarak kullanılan *S. aureus* ATCC 29213 suşunun hemolitik aktivite görüntüsü, Şekil 22’de çalışmada izole edilen hemolitik aktiviteye sahip olmayan *Kluy. marxianus* 548 suşunun %5 (w/v) defibrine koyun kanı içeren Columbia agar ve

YPD agar üzerindeki görüntüsü verilmiştir. Bakteri ve maya suşlarının hemolitik aktivite sonuçları Tablo 36’da verilmiştir.



Şekil 21. Hemolitik aktiviteye sahip *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşu

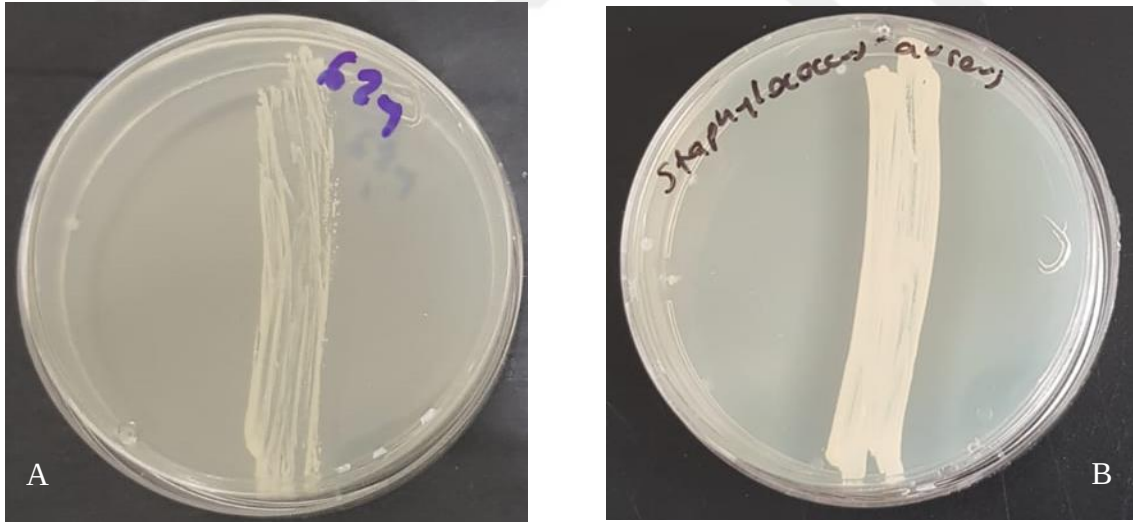


Şekil 22. Hemolitik aktiviteye sahip olmayan *Kluyveromyces marxianus* 548 suşunun kanlı Columbia agar ve YPD agar üzerindeki görüntüsü

DNase aktivitesi

Deoksiribonükleaz (DNase) enzimi DNA moleküllerinin hidrolizine neden olabileceği için test edilen suşlarda DNase enziminin bulunmaması, fermantasyonda kullanımlarının güvenliğini desteklemektedir (Somashekaraiah vd., 2019). Hücre dışı DNase aktivitesinin, irini sıvılaştırarak enfekte eden bakterilerin yayılmasına katkıda bulunduğu ve doğuştan gelen bağışıklık tepkisinden kaçmada rol oynadığı öne sürülmüştür (Sumbly vd., 2005). İzolatların güvenlik değerlendirmesinde DNase aktivitesi, probiyotiklerin patojen olmama durumunu kanıtlaması açısından önemlidir (Somashekaraiah vd., 2019). DNase agar besiyerinde zon oluşmaması suşların DNase aktivitesine sahip olmadığını göstermektedir.

Muhtemel probiyotik olduğu düşünülen tüm bakteri ve maya izolatlarının DNase aktivitesine sahip olmadığı bulunmuştur. Literatüre bakıldığında bu sonucu destekler başka çalışmalar da bulunmaktadır (Somashekaraiah vd., 2019, Trindade vd., 2022). Yapılan bir çalışmada *Lactobacillus* suşlarının hiçbiri DNase aktivitesi açısından pozitif olarak bulunmamıştır (Mathara vd., 2008). Çalışmada izole edilen *Kluy. marxianus* 624 suşunun ve pozitif kontrol olarak kullanılan *S. aureus* ATCC 29213 suşunun DNase agar'daki gelişimi Şekil 23'de verilmiştir. Bakteri ve maya suşlarının hemolitik aktivite sonuçları ise Tablo 37'de verilmiştir.



Şekil 23. *Kluyveromyces marxianus* 624 suşunun (A) ve pozitif kontrol olarak kullanılan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşunun (B) DNase agar'daki gelişimi

Tablo 37. Bakteri ve Maya İzolatlarının DNase Aktivitesi

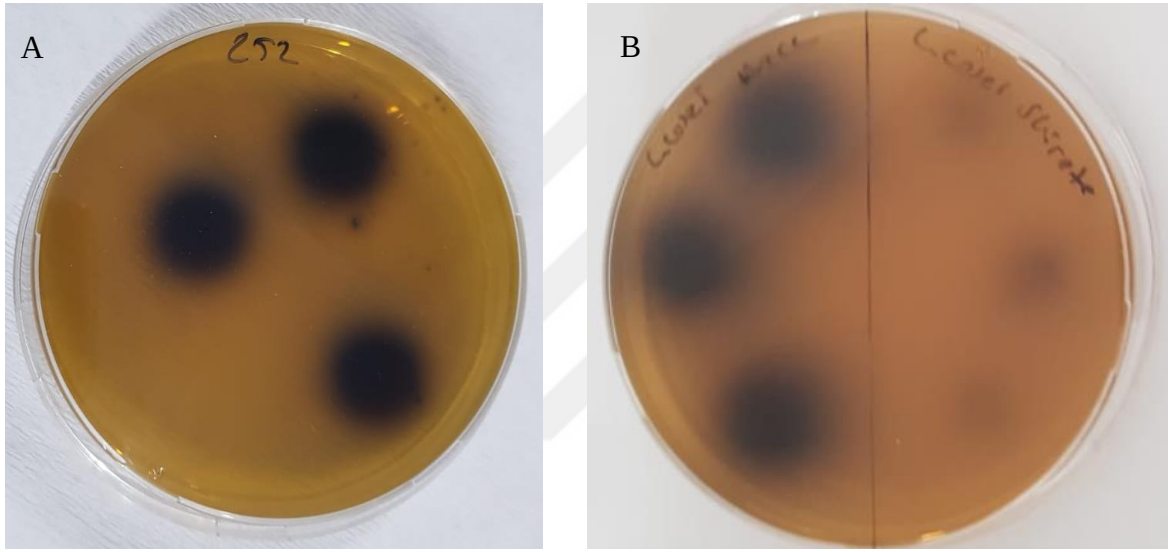
İzolat No	DNase aktivitesi	İzolat No	DNase aktivitesi	İzolat No	DNase aktivitesi
5	-	202	-	502	-
6	-	203	-	506	-
8	-	204	-	510	-
14	-	205	-	517	-
22	-	206	-	524	-
23	-	207	-	529	-
34	-	246	-	540	-
44	-	247	-	543	-
47	-	249	-	548	-
55	-	250	-	568	-
56	-	252	-	571	-
59	-	253	-	575	-
74	-	255	-	583	-
75	-	286	-	585	-
76	-	294	-	590	-
77	-	297	-	594	-
87	-	299	-	597	-
88	-	475	-	601	-
98	-	482	-	604	-
110	-			607	-
111	-			609	-
117	-			613	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	+			614	-
				618	-
				624	-

Safra tuzu hidrolaz aktivitesi

Safra tuzu hidrolaz (BSH), bağırsak mikroflorası tarafından üretilen ve glisin veya taurine bağlı safra tuzlarının dekonjugasyonunu katalize eden bir enzimdir (Shehata vd., 2016, Byakika vd., 2020). BSH aktivitesi, probiyotik suşlarının duodenumdaki konjuge safra tuzlarının toksisitesinden sağ çıkabilmesi, safra tuzlarına karşı daha toleranslı hale gelmesi için önemli bir özelliktir (Shehata vd., 2016, Fadda vd., 2017). Çeşitli probiyotik bakterilerin, serum kolesterolünü düşürmeye yardımcı olan ve bağırsak mikroflorasını düzenlemede etkisi olan safra tuzu hidrolazını (BSH) ürettiği bulunmuştur ve dolayısıyla BSH aktivitesi, probiyotiklerin seçiminde ek bir kriter olarak kabul edilmektedir (Noriega vd., 2006, Shehata vd., 2016, Yerlikaya, 2019). Probiyotiklerdeki safra tuzları hidrolazları ile dekonjugasyon, memelilerde serum kolesterol seviyelerinin azaltılmasıyla ilişkilidir (Noriega vd., 2006).

Muhtemel probiyotik olduğu düşünülen tüm bakteri ve maya izolatları safra tuzu hidrolaz aktivitesi deneyi yapılmıştır. İzolatların safra tuzunu hidrolaz aktivitesi sonuçları Tablo 38’de, kontrol olarak kullanılan *Lcb. casei* ATCC 393 suşu ve *Lcb. casei* strain Shirota ve

çalışmada izole edilen *Lc. lactis* 252 numaralı suşun Bile Esculine Agar üzerindeki sonucu Şekil 24'de verilmiştir. Zon çapı ve zon görüntüsünün rengi karşılaştırıldığında *Lc. lactis* 252 numaralı izolatın *Lcb. casei* ATCC 393 suşundan daha fazla BSH aktivitesine sahip olduğu görülmektedir. Diğer kontrol olarak kullanılan *Lcb. casei* strain Shirota ve *Sacc. boulardii* CNCM I-745 izolatlarının ise BSH aktivitesi tespit edilememiştir. Sonuçlar incelendiğinde, maya izolatlarının BSH aktivitesi gösteren suş sayısı bakterilere göre daha fazladır. Bakteri izolatlarından 47, 249, 252 ve 299, maya izolatlarından 502, 506, 517, 524, 529, 548, 568, 571, 575, 597 ve 601 numaralı izolatlar BSH aktivitesi göstermektedir. *Sacc. cerevisiae* 571 numaralı ve *Lc. lactis* 252 numaralı suşların en yüksek BSH aktivitesine sahip oldukları tespit edilmiştir.



Şekil 24. *Lactococcus lactis* 252 suşunun (A) ve pozitif kontrol olarak kullanılan *Lcb. casei* ATCC 393 ve *Lcb. casei* strain Shirota suşlarının (B) Bile Esculine Agar üzerindeki gelişimi

BSH aktivitesi, mide-bağırsak kanalından (GIT) izole edilen *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi spesifik bakteri gruplarında sıklıkla gözlenir ancak mayalar için nadiren de olsa BSH aktivitesi rapor edilmiştir (Fadda vd., 2017). Yapılan bir çalışmada *Kluy. marxianus* KP268080 suşunun safra tuzu hidrolaz aktivitesi gösterdiğini, *Kluy. marxianus* KP268081 suşunun BSH aktivitesi göstermediği bildirilmektedir (Fadda vd., 2017). Bu çalışmada elde edilen sonucun benzer olduğu görülmektedir. Shehata vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada *Lc. lactis* subsp. *lactis* izolatlarının da aralarında olduğu 9 laktik asit bakterisinden 8 tanesinin farklı seviyelerde BSH aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur. Yerlikaya (2019) tarafından yapılan çalışmada ise, *Lc. lactis* izolatlarının farklı safra tuzlarında (taurokolik asit, taurodeoksikolik asit, glikokolik asit ve glikodeoksikolik asit) farklı gelişimler gösterdiği tespit edilmiştir. Zheng vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, *Len. kefir* D17

izolatının BSH aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Byakika vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada *Lc. lactis* MNC 24 izolatının düşük BSH aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur.

Tablo 38. Bakteri ve Maya İzolatlarının Safra Tuzu Hidrolaz Aktivitesi

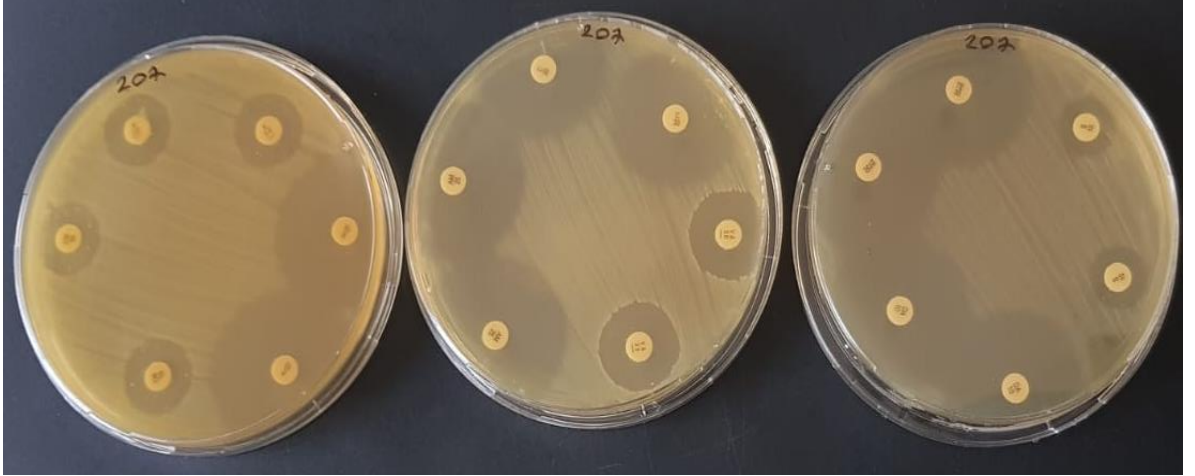
İzolat No	Zon Çapı (mm)	İzolat No	Zon Çapı (mm)	İzolat No	Zon Çapı (mm)
5	-	202	-	502	+14,00±1,00
6	-	203	-	506	+16,00±1,00
8	-	204	-	510	-
14	-	205	-	517	+13,00±1,00
22	-	206	-	524	+15,33±0,58
23	-	207	-	529	+13,67±1,53
34	-	246	-	540	-
44	-	247	-	543	-
47	+10,27±0,29	249	+13,83±0,29	548	+14,67±0,58
55	-	250	-	568	+14,00±2,00
56	-	252	+15,83±0,29	571	+16,00±1,00
59	-	253	-	575	+14,67±0,58
74	+8,50±0,50	255	-	583	-
75	-	286	-	585	-
76	-	294	-	590	-
77	-	297	-	594	-
87	-	299	+13,50±0,50	597	+13,00±1,00
88	-	475	-	601	+13,00±1,00
98	-	482	-	604	-
110	-			607	-
111	-			609	-
117	-			613	-
<i>Lcb. casei</i> ATCC 393	+10,33±0,58			614	-
<i>Lcb. casei</i> strain Shirota	-			618	-
<i>Sacc. boulardii</i> CNCM I-745	-			624	-

Antibiyotik Direnci

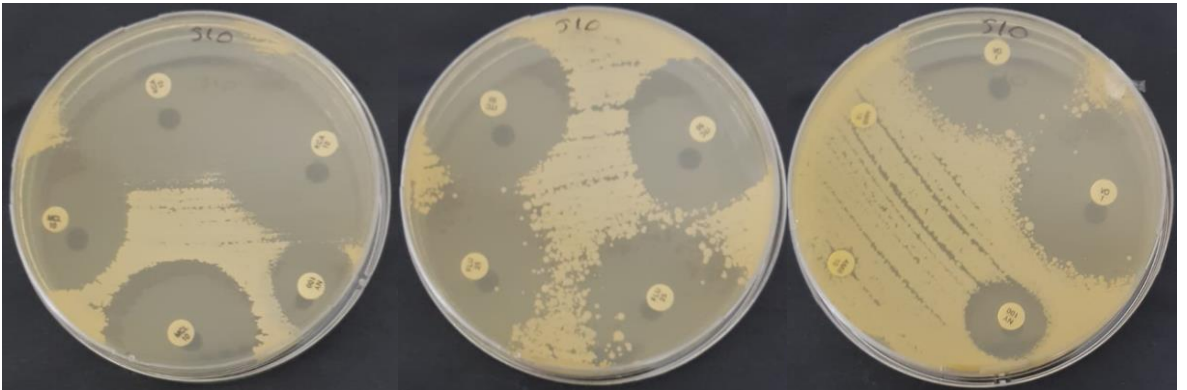
Antibiyotikler, sağlık sektörü tarafından bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede kullanılan önemli bir araçtır; ancak bakteriler uyum sağlama yeteneği yüksek canlılardır ve antibiyotiklere karşı direnç geliştirme yeteneğine sahiptirler. Sonuç olarak, onlarca yıldır süren antibiyotik kullanımı, daha doğrusu yanlış kullanım, birçok modern antibiyotiğe karşı bakteriyel dirençle sonlanmasına neden olmuştur (Mathur ve Singh, 2005). Bu antibiyotik direnci, bir zamanlar antibiyotiklerle kolayca tedavi edilen, yaygın bakteriyel enfeksiyonları olan birçok insan için önemli tehlikelere ve acılara neden olabilir (Mathur ve Singh, 2005, Erginkaya vd., 2018).

Antibiyotik direnci, bakteriyel enfeksiyonların etkili tedavisinin tehlikeye girmesiyle birlikte dünya çapında artan bir sorundur. Antibiyotiklerin hem insan hem de hayvan tedavisinde yaygın kullanımı, gıda yoluyla bulaşabilecek direnç fenotiplerinin kazanılması için

seçici bir baskı yaratmıştır (Zhou vd., 2012). Fermente süt ürünleri ile laktik starter kültürlerin bağırsaklara çok sayıda alınması ve mikrobiyota ile etkileşime girmesi sağlanır (Mathur ve Singh, 2005). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, antibiyotiğe dirençli LAB; süt ürünleri, şarap ve et gibi fermente gıdalardan, insanlardan ve hayvanlardan izole edilmiştir (Masco vd., 2006, D'Aimmo vd., 2007, Wang vd., 2019). Antibiyotik dirençli suşları içeren probiyotiklerin ticari olarak piyasaya sürülmesi, gıda üretiminde kullanılması, direncin bağırsak patojenlerine aktarılması gibi olumsuz sonuçlara da yol açabilir (Mathur ve Singh, 2005, Ammor vd., 2007, Zhou vd., 2012). Bu yüzden, LAB kullanımı uzun ve güvenli bir geçmişe sahip olmasına ve 'genel olarak güvenli kabul edilen' (GRAS) statüsünü kazanmış olmasına rağmen, seçilen suşların güvenliği, yalnızca virülans faktörleri ve diğer potansiyel hastalığa neden olan özellikler açısından değil, aynı zamanda antibiyotik direnç belirleyicilerini edinme ve yayma yetenekleri açısından da kullanımdan önce değerlendirilmelidir (Liu vd., 2009). Şekil 25'de bakterilerin antibiyotik direnci, Şekil 26'da maya izolatlarının antifungal direnci gösterilirken, Tablo 39'da bakterilerin antibiyotik direnci, Tablo 40'da mayaların antifungal direnç inhibisyon zon çapları verilmiştir.



Şekil 25. *Lactococcus lactis* 207 numaralı izolatın antibiyotik direnci



Şekil 26. *Kazachstania unispora* 510 numaralı suşun antifungal direnci

Tablo 39. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnci İnhibisyon Zon Çapları

İzolat No	İnhibisyon zon çapı (mm)								
	AMP (25 µg)	ERT (15 µg)	VAN (30 µg)	STR (10 µg)	CLA (30 µg)	KAN (30 µg)	GEN (10 µg)	CLI (10 µg)	TET (30 µg)
5	32,5±0,7 (H)	29,0±1,4 (H)	25,0±1,4 (H)	-(D)	29,0±1,4 (H)	11,5±0,7 (D)	11,5±0,7 (D)	29,0±1,4 (H)	35,5±0,7 (H)
6	39,5±0,7 (H)	38,0±1,4 (H)	29,5±0,7 (H)	17,0±1,4 (O)	40,5±0,7 (H)	11,5±0,7 (D)	14,5±0,7 (D)	30,0±0,0 (H)	42,0±1,4 (H)
8	30,0±1,4 (H)	28,5±0,7 (H)	21,5±0,7 (H)	10,5±0,7 (D)	29,5±0,7 (H)	14,5±0,7 (D)	11,5±0,7 (D)	30,0±0,0 (H)	34,0±1,4 (H)
14	45,0±1,4 (H)	53,5±0,7 (H)	-(D)	25,0±1,4 (H)	25,0±4,2 (H)	9,5±0,7 (D)	21,0±0,0 (H)	39,0±1,4 (H)	26,0±0,0 (H)
22	35,5±2,1 (H)	28,5±0,7 (H)	23,5±0,7 (H)	13,5±0,7 (D)	33,0±1,4 (H)	17,5±0,7 (O)	16,0±1,4 (O)	33,0±1,4 (H)	37,0±1,4 (H)
23	39,0±1,4 (H)	49,5±0,7 (H)	-(D)	14,5±0,7 (D)	42,5±0,7 (H)	10,0±0,0 (D)	20,0±0,0 (O)	32,0±0,0 (H)	26,5±0,7 (H)
34	43,0±1,4 (H)	45,0±4,2 (H)	-(D)	-(D)	38,5±2,1 (H)	-(D)	12,5±2,1 (D)	43,0±1,4 (H)	39,5±0,7 (H)
44	31,5±2,1 (H)	39,0±1,4 (H)	-(D)	-(D)	34,0±2,8 (H)	-(D)	10,5±0,7 (D)	29,5±0,7 (H)	21,5±0,7 (H)
47	49,0±4,2 (H)	50,5±3,5 (H)	-(D)	23,0±1,4 (H)	29,5±2,1 (H)	14,0±0,0 (D)	13,5±0,7 (D)	18,0±0,0 (H)	53,0±1,4 (H)
55	39,0±1,4 (H)	50,0±2,8 (H)	-(D)	22,0±2,8 (H)	41,0±1,4 (H)	16,0±1,4 (O)	22,0±2,8 (H)	40,0±0,0 (H)	23,5±0,7 (H)
56	40,0±0,0 (H)	48,0±0,0 (H)	-(D)	20,0±0,0 (O)	37,0±1,4 (H)	14,0±0,0 (D)	24,0±0,0 (H)	39,0±1,4 (H)	17,5±0,7 (O)
59	46,0±2,8 (H)	54,5±0,7 (H)	-(D)	29,0±1,4 (H)	54,5±0,7 (H)	18,0±0,0 (O)	43,0±1,4 (H)	61,0±1,4 (H)	24,5±0,7 (H)
74	30,0±0,0 (H)	38,0±0,0 (H)	-(D)	-(D)	36,0±0,0 (H)	-(D)	-(D)	29,0±1,4 (H)	37,5±0,7 (H)
75	40,5±0,7 (H)	23,5±0,7 (H)	24,5±0,7 (H)	-(D)	33,0±1,4 (H)	12,0±1,4 (D)	9,0±0,0 (D)	39,5±0,7 (H)	38,5±0,7 (H)
76	39,0±1,4 (H)	24,5±0,7 (H)	27,5±0,7 (H)	14,0±0,0 (D)	24,5±2,1 (H)	19,5±0,7 (O)	13,5±0,7 (D)	31,5±0,7 (H)	38,5±2,1 (H)
77	38,0±2,8 (H)	51,0±1,4 (H)	-(D)	14,0±0,0 (D)	41,0±1,4 (H)	12,5±0,7 (D)	20,0±0,0 (O)	38,0±2,8 (H)	21,5±0,7 (H)
87	38,0±2,8 (H)	42,0±2,8 (H)	-(D)	-(D)	37,0±1,4 (H)	-(D)	11,0±1,4 (D)	38,0±2,8 (H)	19,0±1,4 (O)
88	41,0±1,4 (H)	48,0±2,8 (H)	-(D)	21,0±1,4 (H)	48,0±0,0 (H)	19,0±1,4 (O)	23,0±1,4 (H)	51,0±1,4 (H)	18,0±0,0 (O)
98	35,0±2,8 (H)	29,0±1,4 (H)	27,0±0,0 (H)	11,0±1,4 (D)	33,0±2,8 (H)	14,5±0,7 (D)	13,5±0,7 (D)	31,5±0,7 (H)	38,0±0,0 (H)
110	30,0±0,0 (H)	46,0±0,0 (H)	-(D)	12,0±2,8 (D)	42,0±2,8 (H)	10,0±0,0 (D)	17,0±1,4 (O)	42,0±0,0 (H)	19,0±1,4 (O)
111	31,0±1,4 (H)	46,0±2,8 (H)	-(D)	19,0±1,4 (O)	37,5±0,7 (H)	17,0±1,4 (O)	20,5±0,7 (O)	46,0±0,0 (H)	21,5±0,7 (H)
117	29,0±1,4 (H)	32,5±0,7 (H)	-(D)	10,5±0,7 (D)	28,5±2,1 (H)	11,5±0,7 (D)	14,5±0,7 (D)	38,0±2,8 (H)	31,0±1,4 (H)

AMP: Ampisilin, ERT: Eritromisin, VAN: Vankomisin, STR: Streptomisin, CLA: Kloramfenikol, KAN: Kanamisin, GEN: Gentamisin, CLI: Klindamisin, TET: Tetrasiklin

H: Hassas, O: Orta derecede dirençli, D: Dirençli (Sonuçlar, iki paralelin diskleri etrafındaki zon bölgelerinin mm cinsinden ortalama çapı olarak verilmiştir)

Tablo 39. Devamı

İzolat No	İnhibisyon zon çapı (mm)								
	AMP (25 µg)	ERT (15 µg)	VAN (30 µg)	STR (10 µg)	CLA (30 µg)	KAN (30 µg)	GEN (10 µg)	CLI (10 µg)	TET (30 µg)
202	35,0±0,0 (H)	36,0±1,4 (H)	19,5±0,0 (O)	13,3±0,4 (D)	30,0±1,4 (H)	17,3±0,4 (O)	16,8±1,1 (O)	33,5±0,7 (H)	34,5±0,7 (H)
203	32,5±0,7 (H)	17,5±0,0 (O)	19,3±0,4 (O)	13,3±1,1 (D)	29,5±0,7 (H)	16,3±0,4 (O)	16,3±0,4 (O)	31,5±0,7 (H)	32,5±0,7 (H)
204	34,0±0,0 (H)	34,3±0,4 (H)	19,8±0,4 (O)	12,5±0,7 (D)	31,3±0,4 (H)	18,0±0,0 (O)	17,3±0,4 (O)	32,0±0,0 (H)	34,8±0,4 (H)
205	34,5±0,7 (H)	34,0±1,4 (H)	18,8±0,4 (O)	11,3±0,4 (D)	30,5±0,7 (H)	16,8±0,4 (O)	16,3±0,4 (O)	32,5±0,7 (H)	31,5±0,7 (H)
206	34,5±0,7 (H)	32,5±0,7 (H)	22,3±0,4 (H)	12,0±0,0 (D)	32,5±0,7 (H)	16,3±0,4 (O)	16,8±0,4 (O)	33,5±0,7 (H)	32,8±0,4 (H)
207	34,5±0,7 (H)	34,3±0,4 (H)	19,0±0,7 (O)	12,3±0,4 (D)	30,0±0,0 (H)	16,0±0,0 (O)	16,0±0,0 (O)	29,0±1,4 (H)	35,5±0,7 (H)
246	35,3±0,4 (H)	33,0±1,4 (H)	21,8±0,4 (H)	11,0±0,0 (D)	29,5±0,7 (H)	16,5±0,7 (O)	16,3±0,4 (O)	35,0±1,4 (H)	33,5±2,1 (H)
247	33,0±1,4 (H)	31,8±0,4 (H)	23,3±0,4 (H)	13,8±0,4 (D)	28,3±0,4 (H)	18,8±0,4 (O)	17,8±0,4 (O)	34,5±0,7 (H)	35,5±0,7 (H)
249	34,0±0,0 (H)	32,0±0,0 (H)	22,3±0,4 (H)	-(D)	30,5±0,7 (H)	14,5±0,7 (D)	12,3±0,4 (D)	32,5±0,7 (H)	34,0±0,0 (H)
250	35,5±0,7 (H)	34,5±0,7 (H)	19,0±0,7 (O)	12,3±0,4 (D)	31,0±0,0 (H)	14,8±0,4 (D)	14,8±0,4 (D)	32,5±0,7 (H)	34,5±0,7 (H)
252	19,8±0,4 (O)	-(D)	-(D)	14,8±0,4 (D)	21,8±1,1 (H)	18,0±0,0 (O)	16,3±1,1 (O)	-(D)	24,0±0,0 (H)
253	37,5±0,7 (H)	32,0±0,0 (H)	23,0±0,7 (H)	14,5±1,4 (D)	30,5±0,7 (H)	17,5±0,7 (O)	17,5±0,7 (O)	35,5±0,7 (H)	33,0±1,4 (H)
255	34,0±1,4 (H)	34,0±1,4 (H)	22,5±0,7 (H)	13,0±0,0 (D)	31,0±1,4 (H)	16,0±0,0 (O)	12,8±0,4 (D)	33,0±1,4 (H)	37,0±1,4 (H)
286	7,8±0,4 (D)	-(D)	-(D)	19,3±0,4 (O)	24,5±0,7 (H)	19,5±0,7 (O)	10,8±0,4 (D)	-(D)	34,0±0,0 (H)
294	36,0±0,0 (H)	18,0±0,0 (O)	23,5±0,7 (H)	16,0±0,7 (O)	32,0±0,0 (H)	19,8±0,4 (O)	20,0±0,0 (O)	38,5±0,7 (H)	37,0±1,4 (H)
297	37,0±1,4 (H)	33,0±1,4 (H)	23,8±1,1 (H)	14,0±0,0 (D)	35,0±1,4 (H)	18,8±0,4 (O)	19,0±0,0 (O)	33,0±1,4 (H)	10,8±0,4 (D)
299	37,0±1,4 (H)	35,5±0,7 (H)	24,0±1,4 (H)	9,8±0,4 (D)	27,8±0,4 (H)	12,3±0,4 (D)	13,0±0,7 (D)	34,5±0,7 (H)	37,0±1,4 (H)
475	19,75±0,4 (O)	11,0±0,0 (D)	-(D)	16,0±0,7 (O)	22,8±1,1 (H)	19,5±0,7 (O)	17,0±0,0 (O)	-(D)	25,0±0,7 (H)
482	17,75±0,4 (O)	34,5±0,7 (H)	22,75±1,1 (H)	16,0±1,4 (O)	28,5±0,7 (H)	21,0±0,7 (H)	20,0±0,0 (O)	37,5±0,7 (H)	37,0±1,4 (H)

AMP: Ampisilin, ERT: Eritromisin, VAN: Vankomisin, STR: Streptomisin, CLA: Kloramfenikol, KAN: Kanamisin, GEN: Gentamisin, CLI: Klindamisin, TET: Tetrasiklin

H: Hassas, O: Orta derecede dirençli, D: Dirençli (Sonuçlar iki paralelin diskleri etrafındaki zon bölgelerinin mm cinsinden ortalama çapı olarak verilmiştir)

Tablo 40. Maya İzolatlarının Antifungal Direnç İnhibisyon Zon Çapları

İzolat No	İnhibisyon zon çapı (mm)						
	KTC (10 µg)	FLU (25 µg)	AMB B (10 µg)	NY (100 IU)	ITC (50 µg)	VO (1 µg)	MCL (10 µg)
502	43,0±1,4 (H)	26,5±0,7 (H)	-(D)	17,5±0,7 (O)	33,5±0,7 (H)	33,5±0,7 (H)	32,0±0,0 (H)
506	39,5±0,7 (H)	31,0±1,4 (H)	8,0±0,0 (D)	19,5±0,7 (O)	32,0±0,0 (H)	41,5±2,1 (H)	29,5±0,7 (H)
510	47,0±1,4 (H)	30,5±0,7 (H)	-(D)	19,0±1,4 (O)	36,0±1,4 (H)	40,0±0,0 (H)	36,5±0,7 (H)
517	18,0±0,0 (O)	31,0±1,4 (H)	-(D)	20,0±0,0 (O)	32,5±0,7 (H)	29,0±1,4 (H)	29,0±1,4 (H)
524	-(D)	-(D)	-(D)	19,5±0,7 (O)	-(D)	-(D)	13,0±1,4 (D)
529	49,0±1,4 (H)	39±1,4 (H)	-(D)	18,5±0,7 (O)	34,5±0,7 (H)	41,0±1,4 (H)	36,0±0,0 (H)
540	15,0±1,4 (D)	-(D)	-(D)	13,0±4,2 (D)	34,0±0,0 (H)	-(D)	29,5±0,7 (H)
543	39,0±1,4 (H)	28,5±0,7 (H)	10,0±0,0 (D)	20,0±0,0 (O)	30,0±0,0 (H)	39,0±1,4 (H)	32,0±0,0 (H)
548	51,5±0,7 (H)	38,0±0,0 (H)	-(D)	20,0±0,0 (O)	37,5±0,7 (H)	42,0±0,0 (H)	37,0±1,4 (H)
568	32,0±0,0 (H)	18,0±0,0 (O)	8,0±0,0 (D)	17,0±1,4 (O)	27,5±0,7 (H)	29,0±1,4 (H)	31,0±0,0 (H)
571	36,5±0,0 (H)	29,5±0,7 (H)	9,5±0,7 (D)	21,0±0,0 (H)	30,0±0,0 (H)	39,0±1,4 (H)	32,0±0,0 (H)
575	-(D)	-(D)	-(D)	21,0±0,0 (H)	32,5±0,7 (H)	-(D)	16,0±0,0 (D)
583	17,0±1,4 (O)	37,0± 0,0 (H)	-(D)	17,0±1,4 (O)	29,0±1,4 (H)	35,0±1,4 (H)	19,0±1,4 (O)
585	34,0±1,4 (H)	26,5±0,7 (H)	9,0±0,0 (D)	18,5±0,7 (O)	39,5±0,7 (H)	37,5±0,7 (H)	32,0±0,0 (H)
590	42,5±0,7 (H)	33,5±0,7 (H)	10,0±0,0 (D)	21,0±1,4 (H)	32,5±2,1 (H)	39,0±1,4 (H)	33,0±0,0 (H)
594	37,5±0,7 (H)	31,0±1,4 (H)	10,0±0,0 (D)	19,0±1,4 (O)	29,0±1,4 (H)	37±1,4 (H)	30,0±0,0 (H)
597	11,5±0,7 (D)	23,5±0,7 (H)	-(D)	19,0±1,4 (O)	31,0±1,4 (H)	-(D)	10,5±0,7 (D)
601	10,0±0,0 (D)	-(D)	-(D)	20,0±0,0 (O)	-(D)	-(D)	13,0±1,4 (D)
604	48,0±0,0 (H)	32,0±2,8 (H)	-(D)	21,0±0,0 (H)	33,5±0,7 (H)	41,0±1,4 (H)	34,0±0,0 (H)
607	18,0±0,0 (O)	39±1,4 (H)	-(D)	17,0±1,4 (O)	33,0±1,4 (H)	41,0±1,4 (H)	30,5±0,7 (H)
609	38,0±0,0 (H)	28,0±0,0 (H)	10,0±0,0 (D)	20,0±0,0 (O)	30,5±0,7 (H)	37,5±0,7 (H)	32,5±0,7 (H)
613	39,5±0,7 (H)	30,0±0,0 (H)	8,5±0,7 (D)	18,5±0,7 (O)	31,5±0,7 (H)	41,0±1,4 (H)	31,5±0,7 (H)
614	45±1,4 (H)	39±1,4 (H)	-(D)	19,5±0,7 (O)	33,0±1,4 (H)	41,0±1,4 (H)	33,0±1,4 (H)
618	37,5±0,7 (H)	26,5±0,7 (H)	9,5±0,7 (D)	17,0±1,4 (O)	28,5±0,7 (H)	36,5±0,7 (H)	31,0±1,4 (H)
624	39,0±1,4 (H)	32,0±0,0 (H)	10,0±0,0 (D)	18,5±0,7 (O)	33,5±0,7 (H)	39,5±2,1 (H)	31,5±0,7 (H)

KTC: Ketokonazol, FLU: Flukonazol, AMB B: Amfoterisin B, NY: Nistatin, ITC: Itrakonazol, VO: Vorikonazol, MCL: Mikonazol

H: Hassas, O: Orta derecede dirençli, D: Dirençli (Sonuçlar iki paralelin antifungal diskleri etrafındaki zon bölgelerinin mm cinsinden ortalama çapı olarak verilmiştir)

Antibiyotik direnci sonuçlarına bakıldığında 294 ve 482 numaralı izolatlar hariç diğer bakteri izolatlarının en az bir antibiyotiğe dirençli olduğunu bulunmuştur. En fazla antibiyotik direncine sahip olan izolat 286 numaralı izolat olup 5 farklı antibiyotiğe direnci tespit edilmiştir. Bunu 4 farklı antibiyotiğe direnci olan 34, 44, 74, 87, 117 ve 252 numaralı bakteri izolatları takip etmektedir. Tablo 39'a bakıldığında genel olarak izolatların vankomisin, streptomisin, kanamisin ve gentamisin antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu görülmektedir. Bütün bakteri izolatları kloramfenikol antibiyotiğine karşı hassastırlar.

Bakterilerin antibiyotik direnç sonuçlarının, geçmişte yapılan çalışmalara benzediği görülmektedir. Sabir vd. (2010) ev yapımı Türk kefirlerinden izole ettiği *Lc. lactis* Z3S suşunun gentamisine ve klindamisine karşı dirençli olduğunu, vankomisin, ampisilin, tetrasiklin ve kloramfenikola karşı duyarlı olduğunu bulmuştur. Bu çalışmalar antibiyotik direncinin türe ve izolata bağlı olarak değiştiğini ortaya koymuştur. *Lc. lactis* izolatının da aralarında olduğu antibiyotik direncinin incelendiği bir çalışmada Iso15 izolatı ampisilin, vankomisin ve klindamisine karşı dirençli, Iso76 suşu ampisiline orta derecede, klindamisine hassas olarak bulunmuştur (Abushelaibi vd., 2017). Frece vd. (2014) ise *Lc. lactis* suşunu klindamisin, eritromisin, ampisilin ve tetrasikline karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Temmerman vd. (2003) tarafından yapılan çalışmada, *Lc. lactis* izolatı kloramfenikol ve vankomisine karşı duyarlı, kanamisine karşı duyarlı dirençli bulunmuştur. Yapılan bir diğer çalışmada ise elde ettiğimiz verilere benzer olarak *Sch. harbinensis* izolatının ampisilin, kloramfenikol, eritromisin ve tetrasiklin antibiyotiklerine duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Agostini vd., 2018). Zheng vd. (2013), *Len. kefir*i izolatının vankomisine dirençli olduğunu ancak laktobasillerin vankomisine doğal olarak dirençli olması nedeniyle bu sonucun beklendiğini belirtmiştir. Bu vankomisine direncin, genellikle içsel olup kromozomal kodlandığı ve aktarılamadığı belirtilmiştir (Klein vd., 2000, Zheng vd., 2013, Gueimonde vd., 2013). *Lb. kefirano*faciens, *Lc. lactis*, *Leu. mesenteroides* ve *Len. kefir*i izolatları başka bir çalışmada vankomisine karşı dirençliyen, tetrasiklin, ampisilin, eritromisin ve kloramfenikola karşı duyarlı olarak bulunmuştur (Zanirati vd., 2015). Bir çalışmada *Leu. mesenteroides* izolatı klindamisin, tetrasiklin, eritromisin ve streptomisine karşı dirençli; ampisilin, kloramfenikol ve gentamisine ise hassas olarak bulunmuştur (Akpınar ve Yerlikaya, 2021). Bu çalışmada ise *Leu. mesenteroides*; kanamisin, vankomisin, streptomisin ve gentamisine karşı dirençli, ampisilin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin ve tetrasikline karşı duyarlı bulunmuştur. Drago vd. (2016), üç farklı *Len. kefir*i suşunun eritromisin ve klindamisine karşı duyarlı olduğunu, tetrasikline karşı ise dirençli olduğunu belirtmektedir. Ayrıca, üç *Len. kefir*i izolatından ikisi gentamisine karşı duyarlıyken bir tanesi dirençli olarak bulunmuştur.

Geçmiş çalışmalara bakıldığında maya izolatlarının antifungal direncini belirlemede bakteriler için kullanılan antibiyotiklerin de kullanılmış olduğu görülmüştür. Bu nedenle, bu çalışmada kullanılan tüm antibiyotiklerle de mayaların antifungal direncine bakılmıştır. Elde edilen sonuçlar literatüre uygun olup, tüm maya suşlarının ampisilin, eritromisin, vankomisin, streptomisin, kloramfenikol, kanamisin, gentamisin, klindamisin ve tetrasikline karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir (Czerucka vd., 2007, Perricone vd., 2014, Amorim vd., 2018, Fernandez-Pacheco vd., 2018, Azhar ve Munaim, 2019). Ayrıca bu çalışmada antifungal direnci belirlemek için antibiyotikler dışında yedi farklı antifungal ajan kullanılmıştır. İzolatların antifungallara karşı dirençlerine bakıldığında, en az bir antifungala karşı dirence sahip olduğu görülmüştür. Amfoterisin B'ye tüm izolatlar dirençli olup en fazla dirence (6 farklı) 524 ve 601 numaralı suşlar sahiptir. Bunu 540 ve 575 numaralı izolatlar (5 farklı) takip etmektedir. Nistatin (540 numaralı izolat hariç) ve itrakonazol (524 ve 601 numaralı suşlar hariç) antigungallarına maya izolatlarının hassas olduğu açıkça görülmektedir.

Probiyotik bakterilerin çoğu bakteriyel antibiyotiklere karşı direnç gösteremez veya bunları tolere edemezken, mayalar bu antibiyotiklere karşı doğal bir dirence sahiptir ve antibiyotik tedavisi gören hastalarda kullanılabilir (Syal ve Vohra, 2013, Amorim vd., 2018, Goktas vd., 2021b, Gürkan Özlü vd., 2022). Bu amaçla, popüler bir probiyotik maya olan *Sacc. cerevisiae* var. *boulardii* antibiyotiğe bağlı ishal risklerinin azaltılmasında kullanılmaktadır (Goktas vd., 2021a, Kunyeit vd., 2023). Hastaları tedavi etmek için maya ve antibiyotiklerin kullanılmasının temel nedeni, mayaların antimikrobiyal direnç sergilemesine rağmen ilaç direnç genlerini diğer mikroorganizmalara aktarmamasıdır (Czerucka vd., 2007, Kılıç Kanak ve Öztürk Yılmaz, 2019, Hsu ve Chou, 2021). Ancak bakteriler arasında gen aktarımı antimikrobiyal dirence neden olmaktadır (Hsu ve Chou, 2021).

Maya izolatları için elde edilen bu çalışmadaki sonuçlar, önceki çalışmalara benzer olarak bulunmuştur. Goktas vd. (2021a) tarafından yapılan çalışmada, *Sacc. boulardii* maya izolatının amfoterisin B antifungalına karşı dirençli olduğu, ketokonazola karşı en hassas suş olduğu bulunmuştur. Flukonazol ve nistatin de suşlara karşı etkili olarak bulunmuştur. Alkay vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada, nistatinin en etkili antifungal olduğu ve *Sacc. cerevisiae* suşlarının çalışmada kullanılan antifungalların neredeyse tamamına duyarlı olduğu belirlenmiştir. Lim vd. (2019) *Kluy. marxianus* ve *Saccharomyces unisporus* (yeni adıyla *Kazachstania unispora*) maya izolatlarını kefirde izole edip, *S. unisporus* suşlarının fluconazole karşı yüksek direnç gösterdiğini *Kluy. marxianus* suşlarının flukonazol tedavisine duyarlı olduğunu bulmuşlardır. Diguță vd. (2022), *Sacc. cerevisiae* BB06 ve *Sacc. boulardii* suşlarının nistatin hariç; çalışmada kullanılan diğer tüm antifungal ajanlara flukonazol,

mikonazol, itrakonazol ve ketokonazola direnç gösterdiğini bulmuşlardır. Ancak bu çalışmaya bakıldığında *Sacc. cerevisiae* 575 numaralı suş hariç hepsinin bu antifungallara karşı hassas olduğu bulunmuştur. Goktas vd. (2021b), kefirde izole ettikleri *Kluy. marxianus*, *Kaza. unispora* ve *Sacc. cerevisiae* suşlarının antifungal ajanlara karşı duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir.

Bakteri izolatlarının antibiyotik direnç profil ve MAR indeksleri Tablo 41’de, maya izolatlarının antifungal direnç profil ve MAR indeksleri Tablo 42’de verilmiştir. Buna göre bakteri izolatlarının MAR indeksi en düşük 0,11 (22, 55, 59, 88, 111, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 246, 247 ve 253 numaralı izolatlar) iken en yüksek 0,56 (286 numaralı izolat) olarak tespit edilmiştir. Maya izolatlarının ise MAR indeksi en düşük 0,11 (502, 506, 510, 517, 529, 543, 548, 568, 571, 583, 585, 590, 594, 604, 607, 609, 613, 614, 618 ve 624 numaralı suşlar) ve en yüksek 0,67 (524 ve 601 numaralı izolatlar) bulunmuştur.

Tablo 41. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnç Profili ve MAR İndeksleri

İzolat No	Antibiyotik Direnç Profil	MAR İndeksi
5	Str Kan Gen	0,33
6	Kan Gen	0,22
8	Str Kan Gen	0,33
14	Van Kan	0,22
22	Str	0,11
23	Van Str rKan	0,33
34	Van Str Kan Gen	0,44
44	Van Str Kan Gen	0,44
47	Van Kan Gen	0,33
55	Van	0,11
56	Van Kan	0,22
59	Van	0,11
75	Str Kan Gen	0,33
74	Str Kan Gen Van	0,44
76	Str Gen	0,22
77	Van Str Kan	0,33
87	Van Str Kan Gen	0,44
88	Van	0,11
98	Str Kan Gen	0,33
110	Van Str Kan	0,33
111	Van	0,11
117	Van Str Kan Gen	0,44
202	Str	0,11
203	Str	0,11
204	Str	0,11
205	Str	0,11
206	Str	0,11
207	Str	0,11
246	Str	0,11
247	Str	0,11

Tablo 41. Devamı

İzolat No	Antibiyotik Direnç Profil	MAR İndeksi
249	Str Kan Gen	0,33
250	Str Kan Gen	0,33
252	Ert Van Str Clı	0,44
253	Str	0,11
255	Str Gen	0,22
286	Amp Ert Van Gen Clı	0,56
294	-	0,00
297	Str Tet	0,22
299	Str Kan Gen	0,33
475	Ert Van Clı	0,33
482	-	0,00

Str: Streptomisin, Kan: Kanamisin, Gen: Gentamisin, Van: Vankomisin, Clı: Klindamisin, Tet: Tetrasiklin AMP: Ampisilin, Ert: Eritromisin

Tablo 42. Maya İzolatlarının Antifungal Direnç Profili ve MAR İndeksleri

İzolat No	Antifungal Direnç Profil	MAR İndeksi
502	Amb B	0,11
506	Amb B	0,11
510	Amb B	0,11
517	Amb B	0,11
524	Ktc Flu Amb B Itc Vo Mcl	0,67
529	Amb B	0,11
540	Ktc Flu Amb B Ny Vo	0,56
543	Amb B	0,11
548	Amb B	0,11
568	Amb B	0,11
571	Amb B	0,11
575	Ktc Flu Amb B Vo Mcl	0,56
583	Amb B	0,11
585	Amb B	0,11
590	Amb B	0,11
594	Amb B	0,11
597	Ktc Amb B Vo Mcl	0,44
601	Ktc Flu Amb B Itc Vo Mcl	0,67
604	Amb B	0,11
607	Amb B	0,11
609	Amb B	0,11
613	Amb B	0,11
614	Amb B	0,11
618	Amb B	0,11
624	Amb B	0,11

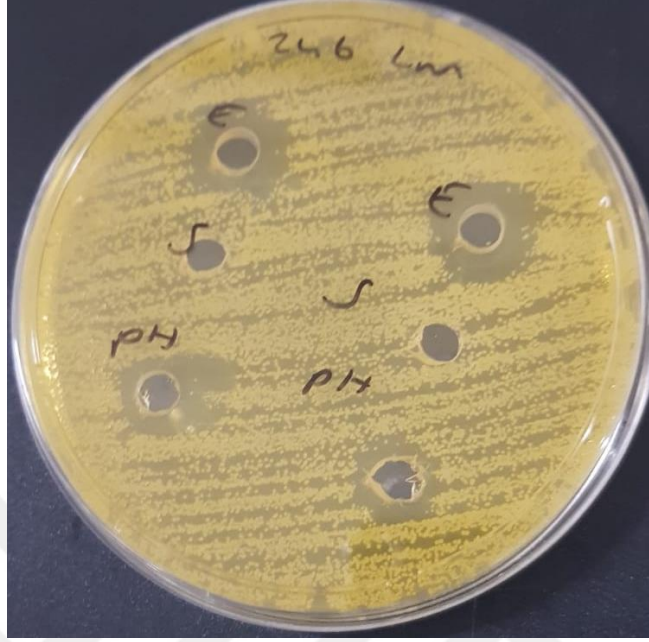
Amb B: Amfoterisin B, Ktc: Ketokonazol, Flu: Flukonazol, Ny: Nistatin, Itc: Itrakonazol, Vo: Vorikonazol, Mcl: Mikonazol

Kefir izolatlarının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi

Geleneksel fermente ürünlerde bulunan LAB, bazen bozulmaya neden olan bakterilere ve gıda kaynaklı patojenlere karşı antibakteriyel aktiviteler sergilerler (Aka-Gbezo vd., 2018). Genel olarak, LAB'nin probiyotik potansiyeli büyük ölçüde antimikrobiyal peptitler (bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri inhibitör maddeler), aseton, organik asitler (laktik, asetik, ketoglutarik ve malonik asitler), diasetil, hidrojen peroksit, etanol, asetaldehit, karbondioksit ve inhibitör ekzopolisakkarit salgılama yeteneklerine bağlanır ve bunların tümü, gıda kaynaklı patojenlerin büyümesini engelleyebildiği bildirilmiştir (Aka-Gbezo vd., 2018, Abubakr, 2018, Tousehik vd., 2021, Akpınar ve Yerlikaya, 2021). Bakterilerin epitel yüzeylerine yapışarak ve antimikrobiyal maddeler üreterek bağırsak patojenlerine karşı antagonist etki sağladığı rapor edilmiştir (Mgomi vd., 2023). LAB, antimikrobiyal ajana bağlı olarak, patojenik hücre membranının işlevini bozan, membran geçirgenliğine, hücre lizisine, hücre içeriğinin kaybına ve son olarak ölüme neden olan bakteriyostatik ve bakterisidal etkiler ortaya çıkarabilir (Mgomi vd., 2023).

Patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite, potansiyel bir probiyotik suş için arzu edilen bir özelliktir (Shokryazdan vd., 2014). Bu nedenle bu çalışmada, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213, *B. cereus* ATCC 33019 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644, *Aspergillus niger* ATCC 16888, *Candida albicans* ATCC 90029 ve *Saccharomyces cerevisiae* ACC 24 izolatları kullanılarak muhtemel probiyotik bakteri ve mayaların antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Tablo 43'de muhtemel probiyotik bakteri izolatlarının, Tablo 44'de muhtemel probiyotik maya izolatlarının antimikrobiyal aktivite özellikleri (üç farklı uygulama yapılan CFS'ler ve çalışmada kullanılan suşlar üzerine) verilmiştir. *Lc. lactis* 246 izolatının *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 patojeni üzerine antimikrobiyal etkisi Şekil 27'de gösterilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, tüm bakteri ve maya izolatlarının *Aspergillus niger* ATCC 16888, *Candida albicans* ATCC 90029 ve *Sacc. cerevisiae* ACC 24 izolatları üzerine antimikrobiyal etkisi olmadığı görülmüştür. Ayrıca maya izolatlarının patojen bakterilere karşı da herhangi bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir. *E. coli* ATCC 25922 patojeni üzerine sadece 5 ve 75 numaralı *Lc. lactis* izolatları antimikrobiyal etkiye sahiptir. 202, 203, 204, 205, 206, 207, 246, 247, 249, 255, 294, 297, 299 ve 482 numaralı *Lc. lactis* izolatlarının *S. aureus* ATCC 29213 üzerine antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. 5, 6, 8, 14, 22, 23, 47, 88 ve 1117 numaralı izolatlar ise *B. cereus* ATCC 33019 patojeni üzerine etki göstermiştir. *L. monocytogenes* ATCC 7644 patojeni üzerine ise 246, 247, 249, 253 ve 255 numaralı *Lc. lactis* izolatları antimikrobiyal etki göstermiştir. 5, 6, 8, 14, 22, 23, 47 ve 117 numaralı bakteri izolatlarının sahip oldukları antimikrobiyal aktivitenin pH kaynaklı olduğu belirlenmiştir. Sıvı

besiyerinden laktik asit sentezi pH düşmesine ve ayrılmamış asetik asit moleküllerinin oluşmasına neden olup, antimikrobiyal aktivitenin ortamda oluşan asetik asitten dolayı olabileceği belirtilmiştir (Bulut Albayrak, 2017).



Şekil 27. *Lactococcus. lactis* 246 izolatının *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 patojeni üzerine antimikrobiyal etkisi

Tablo 43. Muhtemel Probiyotik Bakteri İzolatlarının Antimikrobiyal Aktivite Özellikleri (inhibisyon zon çapı, mm)*

İzolat no	Patojenler																				
	<i>E. coli</i> ATCC 25922			<i>S. aureus</i> ATCC 29213			<i>B. cereus</i> ATCC 33019			<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644			<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888			<i>Candida albicans</i> ATCC 90029			<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ACC 24		
	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S
5	9,5±0,7	-	-	-	-	-	10,75±0,3	-	11,50±0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	12,50±0,7	-	14,0±1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	12,0±0,7	-	11,50±0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	12,50±0,7	-	12,25±0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	8,50±0,7	-	10,0±0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	9,50±0,7	-	10,50±0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	-	-	-	-	-	-	10,0±1,4	-	12,5±2,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75	9,0±0,0	-	9,0±0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
88	-	-	-	-	-	-	-	-	7,0±0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
98	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
110	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
117	-	-	-	-	-	-	10,50±0,7	-	10,5±0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* İnhibisyon çapları kuyu çapları (6mm) ile birlikte verilmiştir. E: enzim uygulama; pH: pH nötürleme; S: sıcaklık uygulama

Tablo 43. Devamı

İzolasyon no	Patojenler																				
	<i>E. coli</i> ATCC 25922			<i>S. aureus</i> ATCC 29213			<i>B. cereus</i> ATCC 33019			<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644			<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888			<i>Candida albicans</i> ATCC 90029			<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ACC 24		
	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S
202	-	-	-	10,25±0,3	9,5±0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
203	-	-	-	9,25±0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
204	-	-	-	9,25±0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
205	-	-	-	9,25±0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
206	-	-	-	10,0±0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
207	-	-	-	9,50±0,7	7,0±0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
246	-	-	-	11,75±0,3	11,25±0,3	-	-	-	-	15,75±0,3	12,0±0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
247	-	-	-	9,75±0,3	9,0±0,0	-	-	-	-	13,75±0,3	9,50±0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
249	-	-	-	8,25±0,3	-	-	-	-	-	9,75±0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
252	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
253	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10,25±0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
255	-	-	-	9,25±0,3	10,0±0,0	-	-	-	-	10,75±0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
286	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
294	-	-	-	9,0±0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
297	-	-	-	10,25±0,3	10,25±0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
299	-	-	-	9,50±0,7	7,50±0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
475	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
482	-	-	-	8,75±0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

İnhibisyon çapları kuyu çapları (6mm) ile birlikte verilmiştir. E: enzim uygulama; pH: pH nötrleme; S: sıcaklık uygulama

Tablo 44. Muhtemel Probiyotik Maya İzolatlarının Antimikrobiyal Aktivite Özellikleri (inhibisyon zon çapı, mm)*

İzolat no	Patojenler																				
	<i>E. coli</i> ATCC 25922			<i>S. aureus</i> ATCC 29213			<i>B. cereus</i> ATCC 33019			<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644			<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888			<i>Candida albicans</i> ATCC 90029			<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ACC 24		
	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S	E	pH	S
502	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
506	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
510	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
517	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
524	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
529	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
540	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
543	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
548	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
568	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
571	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
575	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
583	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
585	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
590	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
594	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
597	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
601	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
604	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
607	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
609	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
613	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
614	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
618	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
624	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* İnhibisyon çapları kuyu çapları (6mm) ile birlikte verilmiştir. E: enzim uygulama; pH: pH nötrleme; S: sıcaklık uygulama

Gıda patojenlerini engellemek için LAB kullanımı daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (Mirzaei vd., 2018, Byakika vd., 2019). Byakika vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, *Lc. lactis* MNC 24 izolatının üç farklı *E. coli* suşuna etki edip farklı zon çapları oluşturduğu, *E. coli* BMC 8'e karşı en yüksek inhibisyonu (24,8 mm) sergilediği görülmüştür. Bu çalışmada elde edilen *E. coli* patojenine karşı inhibisyon zonu daha küçüktür. Bazı suşların metabolik üretimlerinin yetersiz veya minimal olması nedeniyle antimikrobiyal etki ortaya çıkarmadığı belirtilmiştir (Ren vd., 2018). Bu çalışmadaki bazı suşların hiçbir antimikrobiyal etkiye sahip olmamasının nedeni bu durum olabilir. Abushelaibi vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, *Lc. lactis* izolatları *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* patojenlerine karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteler sergilediği belirtilmiştir. İçinde *Lb. kefiranofaciens* ve *Lb. kefir* izolatlarının da bulunduğu 58 farklı *Lactobacillus* spp. izolatının antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, *Lactobacillus* izolatlarının yaklaşık %75'i *E. coli* CECT 4076 ve %50'si *L. monocytogenes* CECT 4032 suşlarını inhibe etmiştir (Santos vd., 2003). *L. monocytogenes* izolatlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, izolatlar *B. cereus* CECT 131 ve *E. coli* ATCC 25922 suşlarına karşı antimikrobiyal etki gösteremezken, *L. monocytogenes* ATCC 7644 ve *S. aureus* ATCC 12600 patojenlerine etki gösterdiği bulunmuştur. Purutoğlu (2018) tarafından yapılan çalışmada, kefir izolatlarının test edilen tüm patojenlere karşı farklı düzeylerde etkili olduğunu ve *Lb. kefiranofaciens* KF16 ve *Lc. lactis* KF48 izolatlarının test edilen tüm bakteriyel patojenlere karşı en yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduğunu bulmuştur. Literatürde AAB'nin antibakteriyel aktiviteleri ile ilgili çok fazla çalışma bulunmadığından dolayı bu çalışmada elde edilen *A. cibinongensis* suşu yine Purutoğlu vd. (2020) tarafından izole edilen *A. orientalis* KF105 ile karşılaştırılmıştır. Benzer şekilde suşların patojenlere karşı hiçbir inhibitör aktivite göstermediği bulunmuştur. *Leu. mesenteroides* ve *Lc. lactis* ssp. *lactis* izolatlarının antimikrobiyal etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 ve *L. monocytogenes* ATCC 15313 patojenlerine karşı izolatların farklı antimikrobiyal etkiler gösterildiği belirtilmiştir (Leite vd., 2015).

Purutoğlu vd. (2020)'nın yaptığı çalışmada kefir izolatlarının antifungal etkisi incelenmiş ve izolatların *A. niger* küfü üzerine daha az etkiliyken çalışmadaki diğer küfler üzerine daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Djamel Eddine vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada, laktik asit bakterilerinin *A. niger* üzerine orta derecede antifungal etkiye sahip olduğu görülmüştür. Ancak bu çalışmadaki tüm bakteri ve maya izolatları *A. niger* üzerine antimikrobiyal etkiye sahip değildir. *C. albicans* ATCC 1023, *Sacc. cerevisiae* ATCC 9763, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 35150 ve *L. monocitogenes* ATCC 7644 suşları

kullanılarak *Kluy. marxianus* izolatlarının antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, izolatlar *C. albicans* ATCC 1023, *Sacc. cerevisiae* ATCC 9763, *E. coli* ATCC 35150 ve *L. monocitogenes* ATCC 7644'ye karşı herhangi bir antagonistik etki göstermezken, *S. aureus* ATCC 25923'ye karşı antagonistik etki göstermiştir (Fadda vd., 2017).

Virülans faktör genlerin tespiti

Virülans belirleyicileri (virülans faktörleri veya virülans özellikleri olarak da bilinir), bazı enterokok suşlarında bulunan ve konakçı doku üzerinde patojenik etkiler ve/veya konağın savunma sistemine karşı direnç sağlayabilen, genetik olarak kodlanmış faktörlerdir (Graham vd., 2020). Özellikle bakterilerde hemolitik aktiviteye sahip sitolizin, proteolitik aktiviteye sahip jelatinaz gibi salgılama faktörleri ve biyofilm oluşumu, yüzey proteini, agregasyon maddesi, kolajen bağlayıcı protein ve hiyalüronidaz gibi çeşitli virülans faktörleri bulunmaktadır (Vankerckhoven vd., 2004, Zarzecka vd., 2022).

asa1 (agregasyon maddesi) geni, konak dokuya yapışma ve istila etme yeteneğini geliştiren bir yüzey proteindir ve bunun potansiyel virülans faktörleri ve antibiyotik direnç genleri içeren plazmidlerin hücre kümelenmesi yoluyla diğer mikroorganizmalara aktarılmasında önemli olduğu düşünülmektedir. Ancak yapışmayı indükleyen bu agregasyon maddelerinin probiyotik potansiyeli artıran bazı özellikleri diğer suşlara aktarma olasılığı da vardır (Özkan vd., 2021). Uzun ve güvenli kullanım geçmişine sahip bazı ticari starter suşların *asa1*, *ace* ve *gelE* gibi virülans faktörleri içerdiği, virülans özelliklerinin varlığı ise tek başına enfeksiyon gelişimi anlamına gelmediği belirtilmiştir (Özkan vd., 2021). Bakteri suşlarında *efaAfs*, *agg* ve *ace* genlerinin varlığı potansiyel sağlık yararları sağlamak için, suşların insan bağırsağında kolonizasyonunu kolaylaştırabileceği bir avantaj olarak değerlendirilebilir. Jelatinaz (*gelE*) üretimi, et işlemede bazı suşların proteolitik aktivitesine katkıda bulunabileceği için teknolojik bir dezavantaj sağlar. Bununla birlikte, tek başına *gelE* geninin varlığı, mevcut suşların jelatinaz aktivitesi üreteceği anlamına gelmeyeceği, jelatinaz aktivitesine ait diğer genlerin de mevcut olması gerektiği belirtilmiştir (AlKalbani vd., 2019).

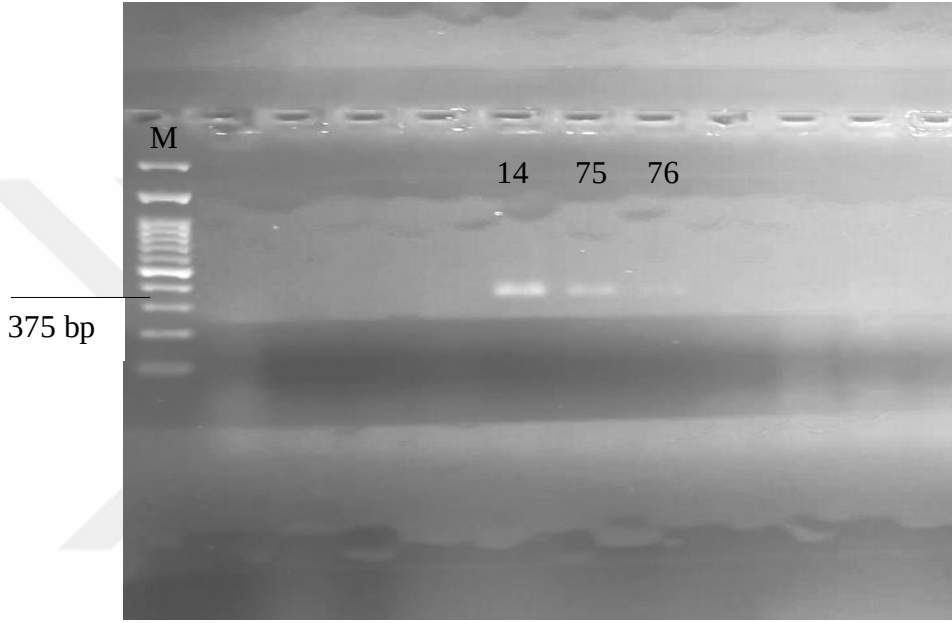
Son yıllarda virülans faktörlerinin tespitinde kaydedilen ilerleme, gıdalardan izole edilen suşlarda virülans faktörlerinin tespit edilmesini mümkün kılmıştır. Bu durum, gıdalarda starter, yardımcı, probiyotik ve/veya koruyucu kültür olarak kullanılması amaçlanan suşların güvenlik değerlendirmesini kolaylaştırmak için gerekli olan önemli bir ilerlemedir (Graham vd., 2020). Güvenlik durumu, potansiyel bir probiyotik türü seçerken dikkate alınması gereken önemli hususlardan biri olup, potansiyel probiyotik suşlarda virülans genlerinin taranması hususlarının değerlendirilmesi önemlidir (Dlamini vd., 2019). Bu çalışmada muhtemel probiyotik bakterilere *asa1*, *ace*, *efaAfs*, *esp*, *gelE*, *cylA*, *hyl* ve *agg* virülans faktör genlerinin

varlığı ve yokluğu PCR amplifikasyonu yoluyla bakteri izolatlarında araştırılmıştır. Tablo 45’de bakteri izolatlarının virülans faktör gen sonuçları, Şekil 28’de *asa1* genine ait PCR jel görüntüsü verilmiştir.

Tablo 45. Bakteri İzolatlarının Virülans Faktör Genleri

İzolat no	Virülans Faktör Genleri							
	<i>asa1</i>	<i>ace</i>	<i>efaAfs</i>	<i>esp</i>	<i>gelE</i>	<i>cylA</i>	<i>hyl</i>	<i>agg</i>
5	+	-	+	-	-	-	-	-
6	+	-	-	-	-	-	-	-
8	+	-	-	-	-	-	-	-
14	+	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-
44	-	-	-	-	-	-	-	-
47	-	-	-	-	-	-	-	-
55	-	-	-	+	-	-	-	-
56	-	-	-	-	-	-	-	-
59	-	-	-	-	-	-	-	-
74	-	-	-	-	-	-	-	-
75	+	+	+	-	-	-	-	-
76	+	+	-	-	-	-	-	-
77	-	+	-	-	-	-	-	-
87	-	-	-	-	-	-	-	-
88	-	-	-	-	-	-	-	-
98	-	-	-	-	-	-	-	-
110	-	-	-	-	-	-	-	-
111	-	-	-	-	-	-	-	-
117	-	-	-	-	-	-	-	-
202	+	-	+	-	-	-	-	-
203	+	-	+	-	-	-	-	-
204	+	-	-	-	-	-	-	-
205	+	-	-	-	-	-	-	-
206	+	-	-	-	-	-	-	-
207	+	-	-	-	-	-	-	-
246	+	-	+	-	-	-	-	-
247	-	-	-	-	-	-	-	-
249	-	-	-	-	-	-	-	-
250	+	-	-	-	-	-	-	-
252	+	-	-	-	-	-	-	-
253	-	-	-	-	-	-	-	-
255	-	-	-	-	-	-	-	-
286	-	-	-	-	-	-	-	-
294	-	-	-	-	-	-	-	-
297	-	-	-	-	-	-	-	-
299	-	-	-	-	-	-	-	-
475	-	-	-	-	-	-	-	-
482	-	-	-	-	-	-	-	-

Sonuçlar incelendiğinde, muhtemel probiyotik kefir bakterilerinin hiçbirisi *gelE*, *cylA*, *hyl* ve *agg* virülans faktör genlerini içermediği görülmektedir. 5, 6, 8, 14, 75, 76, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 246, 250 ve 252 numaralı izolatlar *asa1* virülans faktör genine sahiptir. 75, 76 ve 77 numaralı izolatlar ise *ace* virülans faktör genine sahiptir. 5, 75, 202, 203 ve 246 numaralı izolatlar *efaAfs*, 55 numaralı izolat ise *esp* virülans faktör genine sahiptir. Dlamini vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, dört farklı laktik asit bakterisinin *agg*, *asa1* ve *ace* virülans genlerine sahip olup olmadığı araştırılmış, *asa1* ve *ace* virülans genlerinin bakterilerde olmadığı sadece bir izolatın *agg* virülans genine sahip olduğu bulunmuştur.



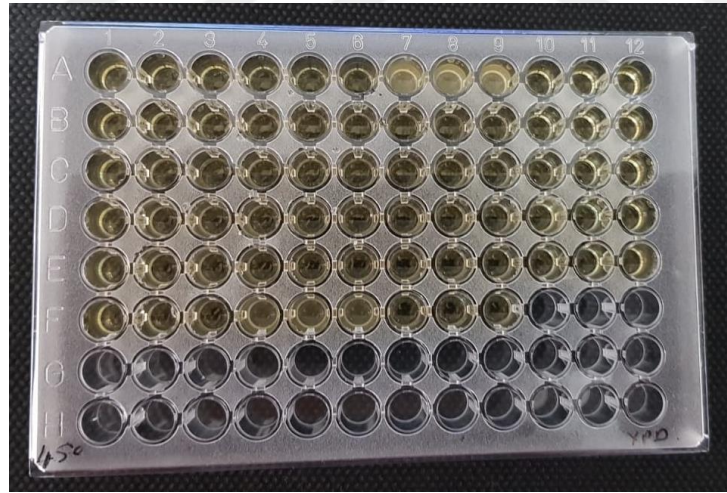
Şekil 28. 14, 75 ve 76 numaralı izolatların *asa1* virülans faktör geni PCR jel görüntüsü (M: Marker)

İzolatların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi

Birçok gıda tüketilmeden önce fermantasyona uğrar ve laktik asit bakterileri (LAB) bu gıda fermantasyonlarında şekerleri organik asitlere dönüştürdükleri ve böylece ürünlerin organoleptik ve reolojik özelliklerini geliştirdikleri için yaygın olarak starter kültür olarak kullanılır (Edema ve Sanni, 2008). Ancak üretim için en uygun suşların seçilmesi teknolojik özelliklerin belirlenmesine bağlıdır. Kefirde bulunması gereken bakteriler ve mayalar dikkate alındığında starter kültür olarak kullanılabilecek MRS, M17, GYC ve PDA besiyerinden izole edilen 103, 67, 49 ve 110 adet suş teknolojik özellik olarak, farklı sıcaklıklarda gelişim, farklı pH'larda gelişim, glikozdan gaz oluşumu, arjinin hidrolizi ve EPS üretim yetenekleri açısından incelenmiştir.

Farklı sıcaklarda gelişimin belirlenmesi

Sıcaklık toleransı probiyotik organizmaların önemli özelliklerinden biridir (Kunyeit vd., 2023). Kefir danesinden izole edilen bakteri ve maya izolatlarının 4, 10, 37 ve 45°C’de gelişimleri incelenmiştir. Bakteri izolatlarının farklı sıcaklıklarda gelişimi Tablo 46’da maya izolatlarının farklı sıcaklıklarda gelişimi ise Tablo 47’de verilmiştir. Şekil 29’da maya izolatlarının 45°C’de 96-kuyucuklu plaka kullanılarak gelişimi verilmiştir. Buna göre 4°C’de gelişimlere bakıldığında, 26 bakteri izolatu gelişirken, 193 bakteri izolatu gelişmemiştir. 96 bakteri izolatu 10°C’de gelişirken, 123 tane bakteri izolatu gelişmemiştir. 37°C’de 49 bakteri izolatu gelişmezken 170 bakteri gelişim göstermiştir. 45°C’de ise 40 bakteri gelişim gösterirken, 179 bakteri izolatu gelişmemiştir. 4°C, 10°C, 37°C ve 45°C’de sırasıyla 5, 27, 78 ve 21 maya izolatu gelişirken, 105, 83,32 ve 89 maya izolatu gelişmemiştir. Genel olarak izolatların büyüme hızları 37°C’de daha yüksek olup, sıcaklık 45°C olduğunda azaldığı görülmüştür. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmaların vücut sıcaklığı olan 37°C’de hayatta kalıp canlılığını devam ettirmesi gerekir. Bu çalışmanın sonucunda, test edilen bakteri ve maya suşlarının çoğunun insan gastrointestinal kanalında hayatta kalabileceği ve dolayısıyla insan vücudunda uygun aktivite olasılığını yaratabileceği görülmüştür. Elde edilen sonuçlar geçmiş çalışmalara uygunluk göstermiştir.



Şekil 29. 96-kuyucuklu plakanın kullanıldığı 45°C’de izolatların gelişimi

Aktaş ve Çetin (2024) tarafından yapılan çalışmada, 4°C ve 10°C’de hiçbir laktik asit bakterisinin gelişmediği, 45°C’de ise tüm izolatların geliştiği görülmüştür. Aktaş ve Erdoğan (2022) ise *Lc. lactis* ve *Lcb. paracasei* suşlarının 4°C ve 10°C’de zayıf geliştiği, 45°C’de ise *Lc. lactis* izolatlarının gelişmediğini rapor etmiş, bu çalışmayla kıyaslandığında bu çalışmada 45°C’de gelişen *Lc. lactis* izolatlarının olduğu görülmüştür. Yapılan bir çalışmada ise *Lc. lactis* izolatlarının 10°C’de gelişip 45°C’de gelişmediği görülmüştür (Bennani vd., 2017). Aktaş vd.

(2022) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise LAB'lerin 10°C'de gelişmediğini, 45°C'de ise hepsinin geliştiği görülmüştür. Hamdaoui vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada tüm *Leu. mesenteroides* izolatlarının 10°C'de gelişip 45°C'de gelişmediği bulunmuştur. Bu çalışmada da buna benzer sonuç alınmıştır.

Yapılan bir çalışmada, *S. unisporus* ATCC 10612 insan vücut sıcaklığında (37°C) gelişmediği, *K. lactis* var. *lactis* ATCC 56498/ *Kluy. marxianus* ATCC 16045 izolatlarının 37°C'de gelişebildiği bulunmuştur (Gut vd., 2019). Gürkan Özlü vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada, TEM-O2Y kodlu *Kluy. marxianus* izolatının 10°C ve 37°C'de geliştiği görülürken, bu çalışmada da tüm *Kluy. marxianus* suşlarının 37°C'de geliştiği ancak 10°C'de hepsinin gelişmediği tespit edilmiştir. *Sacc. boulardii*, *Kaza. unispora* ve *Sacc. cerevisiae* izolatlarının sıcaklık toleranslarının araştırıldığı bir çalışmada, *Kaza. unispora* M3 ve *Sacc. boulardii* M1 izolatlarının insan vücut sıcaklığı ve 45°C'yi tolere ettiği bulunmuştur (Azhar ve Munaim, 2019). Bu çalışmadaki tüm *Sacc. cerevisiae* izolatlarının 37°C'de geliştiği bulunmuş olup, bu sonuç önceki çalışmalarla uyumludur (M. Adisa vd., 2020, Kunyeit vd., 2023, Erseç ve Demirci, 2023).

Tablo 46. İzole Edilen Kefir Bakterilerinin Farklı Sıcaklıklarda Gelişimi

İzolat No	Sıcaklık (°C)				İzolat No	Sıcaklık (°C)			
	4	10	37	45		4	10	37	45
1	-	-	+	-	67	-	-	+	-
2	-	-	+	-	68	-	-	+	-
4	-	-	+	-	69	-	+	+	-
5	-	-	+	+	70	-	-	+	+
6	-	-	+	-	72	-	-	+	-
7	-	-	+	-	73	-	+	+	-
8	-	-	+	-	74	-	-	+	+
9	-	+	+	-	75	-	-	+	+
10	-	-	+	-	76	-	-	+	+
11	+	+	+	+	77	-	+	+	-
14	+	+	+	+	78	-	-	+	-
15	-	+	+	-	79	-	+	+	+
16	-	-	+	-	80	-	+	-	-
17	-	-	+	-	81	+	+	+	-
18	+	+	+	-	83	-	-	+	-
19	-	-	+	-	84	-	-	+	-
20	+	+	+	+	85	+	+	+	-
22	-	-	+	-	86	-	-	+	-
23	-	+	+	+	87	+	+	+	-
24	-	-	+	+	88	-	-	+	-
25	+	+	+	+	89	-	-	+	+
26	-	+	+	-	90	-	-	+	-
27	-	-	+	+	91	+	+	+	-
29	-	-	+	-	92	+	+	+	-
30	-	-	+	-	93	+	+	+	-
31	-	-	+	-	94	-	-	+	-
34	-	-	+	-	95	+	+	+	-
35	-	-	+	-	96	-	-	+	-
36	-	-	+	-	97	-	-	+	-
37	-	-	+	-	98	-	+	+	-
38	-	-	+	-	99	-	+	+	-
39	-	-	+	-	100	-	+	+	-
41	-	-	+	-	101	-	-	+	-
42	-	-	+	-	102	-	-	+	-
43	-	-	+	-	105	+	+	+	-
44	+	+	+	+	106	-	-	+	-
45	-	-	+	-	107	-	-	+	-
46	-	-	+	-	109	-	-	+	-
47	-	-	+	-	110	-	-	+	-
48	-	-	+	-	111	-	-	+	-
49	-	-	+	-	112	-	-	+	-
50	+	+	+	-	113	-	+	+	-
51	-	-	+	-	114	-	+	-	-
52	+	+	+	+	115	-	+	+	-
53	-	-	+	-	116	-	+	+	-
54	-	+	+	-	117	-	+	+	-
55	-	-	+	-	202	-	+	+	+
56	-	+	+	+	203	-	+	+	+
57	-	-	+	-	204	-	-	+	+
59	-	-	+	-	205	-	+	+	+
60	-	-	+	-	206	-	-	+	+
61	+	+	+	+	207	-	+	+	-
62	-	-	+	-	208	-	+	+	-
63	-	-	+	-	209	-	+	+	-
64	-	-	+	-	213	-	+	+	+
65	-	-	+	-	214	-	+	+	+
66	-	-	+	-	225	-	+	+	+

Tablo 46. Devamı

İzol No	Sıcaklık (°C)				İzol No	Sıcaklık (°C)			
	4	10	37	45		4	10	37	45
226	-	+	+	+	482	+	+	+	-
227	-	+	+	+	483	+	+	+	-
230	-	-	+	-	484	-	+	+	-
232	-	+	+	+	301	-	-	-	-
233	-	-	+	-	302	-	-	-	-
238	+	+	+	+	303	-	-	-	-
239	-	+	+	-	304	-	-	-	-
246	-	+	+	-	305	-	-	-	-
247	-	+	+	-	306	-	-	-	-
249	-	+	+	+	308	-	-	-	-
250	-	+	+	+	310	-	-	-	-
252	-	+	+	-	329	-	+	-	-
253	-	+	+	+	330	-	-	-	-
255	-	+	+	-	335	-	-	-	-
256	-	+	+	-	337	-	-	-	-
258	-	+	+	-	339	-	-	-	-
259	-	+	+	-	345	-	+	-	-
260	-	+	+	-	350	-	-	-	-
261	-	+	+	-	354	-	-	+	-
267	-	+	+	-	357	-	-	-	-
268	+	+	+	+	358	-	-	-	-
275	-	-	+	-	362	-	-	-	-
279	-	+	+	+	366	-	-	-	-
280	-	+	+	+	367	-	-	-	-
281	-	+	+	-	370	-	-	-	-
283	-	+	+	-	373	-	-	-	-
286	+	+	+	-	375	-	-	-	-
288	-	+	+	-	376	-	-	-	-
289	-	-	+	-	378	-	-	-	-
292	-	-	+	-	379	-	-	-	-
294	-	+	+	-	381	-	-	-	-
296	-	-	+	-	383	-	-	-	-
297	-	-	+	-	384	-	-	-	-
299	-	+	+	+	385	-	-	-	-
450	-	+	+	+	387	-	-	-	-
451	-	+	+	+	388	-	-	-	-
452	-	-	+	-	391	-	-	-	-
454	-	+	+	-	392	-	-	-	-
457	-	+	+	-	394	-	-	-	-
458	-	+	+	+	398	-	+	+	-
459	-	-	+	-	399	-	-	-	-
463	-	-	+	-	650	-	-	-	-
466	+	+	+	-	653	-	-	-	-
467	-	+	+	-	654	-	-	-	-
468	-	+	+	-	661	-	-	-	-
469	-	+	+	-	662	-	-	-	-
475	-	+	+	-	663	-	+	-	-
476	-	+	+	-	664	-	-	-	-
477	-	+	+	-	665	-	-	-	-
478	+	+	+	-	666	-	-	-	-
479	-	+	+	-	667	-	+	-	-
480	+	+	+	-	668	-	-	-	-
481	+	+	+	-					

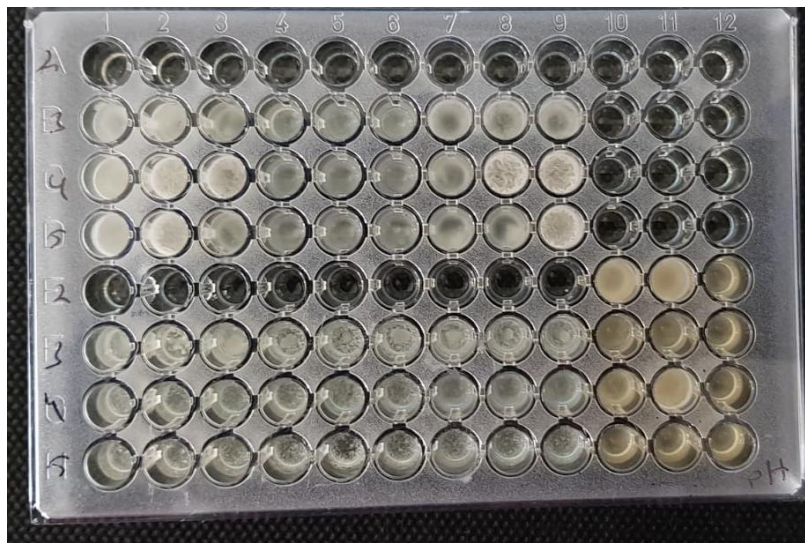
Tablo 47. İzole Edilen Kefir Mayalarının Farklı Sıcaklıklarda Gelişimi

İzolat No	Sıcaklık (°C)				İzolat No	Sıcaklık (°C)			
	4	10	37	45		4	10	37	45
502	-	-	+	-	568	-	-	+	-
503	-	-	+	-	569	-	-	-	-
504	-	-	-	-	571	-	-	+	-
505	-	-	-	-	572	-	-	+	+
506	-	-	+	-	573	-	-	+	-
507	-	+	-	-	575	-	-	+	+
510	-	+	+	+	576	-	-	-	-
511	-	-	+	-	577	-	-	-	-
512	-	-	+	-	578	-	-	-	-
515	-	-	+	-	579	-	-	-	-
516	-	-	-	-	581	-	-	+	+
517	-	-	+	+	583	-	-	+	+
518	-	-	+	+	585	-	-	+	+
519	-	+	+	-	586	-	-	+	-
520	-	+	-	-	587	-	-	+	-
521	-	+	+	-	588	-	-	+	-
522	-	+	-	-	590	-	-	+	-
523	-	-	-	-	591	-	-	+	-
524	-	-	+	+	592	-	-	+	-
526	-	-	-	-	593	-	+	-	-
527	-	-	+	-	594	-	+	+	-
528	-	-	+	-	596	-	-	+	-
529	-	-	+	+	597	-	-	+	+
530	-	-	+	-	598	-	-	+	-
531	-	-	+	-	599	-	-	-	-
532	-	-	+	-	600	-	+	-	-
533	-	-	+	-	601	-	+	+	+
534	-	+	-	-	602	+	+	+	-
536	-	-	-	-	603	-	+	-	-
537	-	-	-	-	604	-	-	+	+
538	-	-	+	-	605	-	-	+	-
539	-	+	-	-	607	-	-	+	+
540	-	-	+	+	608	-	+	+	-
541	-	-	+	-	609	-	-	+	-
542	-	-	+	+	610	-	-	+	-
543	+	+	+	-	612	-	+	+	-
544	-	-	+	-	613	+	+	+	-
545	-	+	-	-	614	-	-	+	+
546	-	-	-	-	615	-	-	+	-
547	-	-	-	-	616	-	-	+	-
548	-	-	+	-	617	-	-	+	-
549	-	-	+	-	618	-	-	+	-
550	-	-	+	-	619	+	+	+	-
552	-	-	+	-	620	-	+	+	-
553	-	-	+	+	621	-	+	+	-
554	-	-	+	+	622	-	+	+	-
555	-	+	-	-	623	+	+	+	-
556	-	-	-	-	624	-	-	+	-
557	-	-	-	-	625	-	+	+	-
558	-	-	-	-	627	-	-	+	-
559	-	-	-	-	628	-	-	+	+
561	-	-	-	-	629	-	-	+	+
563	-	-	+	-	630	-	-	+	-
564	-	-	-	-	631	-	-	+	-
566	-	+	-	-	632	-	-	+	-

Farklı pH'larda gelişimin belirlenmesi

Midede hidroklorik asit salgılanması nedeniyle mide ortamı oldukça asidiktir ve bu durum probiyotik izolatların mideye alınmasından sonra ilk ana bariyer haline gelir (Azhar ve Munaim, 2019). Gıdanın türüne ve miktarına bağlı olarak sindirim midede 2-4 saat (pH 1.0-2.5), ince bağırsakta 5-6 saat (pH=6.6 ±0.5) ve kalın bağırsakta 12-24 saat (pH 7.0±0.7) kadar sürebilir (Kumar ve Kumar, 2015, Azhar ve Munaim, 2019). Başka bir deyişle, sindirim süreci sırasında mide ortamındaki pH 1-8 arasında değişir. Bu nedenle, probiyotik suşların gastrointestinal sistemde olumlu etkilerini gösterebilmeleri için, midenin asidik ortamında hayatta kalması gerekir (Elcioglu ve Kunduhoglu, 2014, Goktas vd., 2021a). LAB'nin midenin düşük pH'ında hayatta kalması, başlangıçtaki asit stresine dayanma açısından önemlidir (Kumar ve Kumar, 2015).

Kefir danelerinden izole edilen bakteri ve maya izolatlarının pH 2, 3, 4 ve 5 değerlerindeki gelişimi araştırılmıştır. Bakteri izolatlarının farklı pH değerlerindeki gelişim sonuçları Tablo 48'de, maya izolatlarının ise Tablo 49'da verilmiştir. Şekil 30'da izolatların 96-kuyucuklu plaka kullanılarak farklı pH'larda gelişimi gösterilmiştir. Tablolar incelendiğinde, pH 2'de hiçbir bakteri izolatının gelişmediği görülmektedir. 36 ve 463 numaralı bakteri izolatları dışındaki tüm bakteriler (217 adet) pH 3'de gelişim göstermemiştir. pH 4'te ise 154 bakteri izolatı gelişirken 65 bakteri gelişmemiştir. En çok bakteri gelişimi pH 5'te olup 207 bakteri gelişmiştir. 12 bakteri izolatı ise pH 5'te gelişim göstermemiştir. 526, 545, 546 ve 547 numaralı maya izolatları pH 2'de gelişim gösterirken 106 maya gelişmemiştir. pH 3, pH 4 ve pH 5 değerinde tüm maya izolatları gelişim göstermiştir.



Şekil 30. İzolatların 96-kuyucuklu plaka kullanılarak farklı pH'lardaki gelişimi

Elde edilen sonuçlar önceki çalışmalara uygun bulunmuştur. *Lcb. paracasei* izolatının pH 2, 3 ve 4 değerinde canlılığını korumaya devam ettiği, direnç gösterdiği bulunmuştur (Mantzourani vd., 2019). Süt ürünlerinden izole edilen LAB'lerin incelendiği bir çalışmada, pH 2 değerine dirençli izolat bulunamazken pH 5 değerine dirençli izolatlar olduğu tespit edilmiştir (Kumar ve Kumar, 2015). Shaheen vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada 14 laktik asit bakterisinden sadece beş tanesinin pH 3'te gelişim gösterdiği bulunmuş olup, bu çalışmada sadece iki bakteri pH 3'e direnç göstermiştir. *Leu. mesenteriodes*, *Lc. lactis* spp. *lactis* ve *Lcb. paracasei* izolatları pH 2'de 4. saat inkübe edildikten sonra canlılıklarını koruduğunu ancak gelişemedikleri belirlenmiştir (Kıvanç ve Yapıcı, 2015). Elcioglu ve Kunduhoglu (2014) ise içinde *Lcb. paracasei* izolatlarının bulunduğu 75 izolattan 17 tanesinin pH 2 ve pH 3'e dirençli olduğu bulunmuştur. Angmo vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada ise pH 2'ye kıyasla pH 3'de, çoğu izolatın canlılığını koruduğu görülmüştür. 73 farklı LAB izolatlarının incelendiği bir çalışmada pH 3'de hiçbir bakterinin gelişmediği, pH 4'de sadece 4 tanesinin geliştiği ve pH 5'te tüm izolatların geliştiği görülmüştür (Aktaş ve Çetin, 2024).

Asidik koşullar altında birçok maya türünün hayatta kaldığı rapor edilmiştir (Alkay vd., 2021). Pedersen vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada *Kluy. marxianus* fl 0h30 izolatının pH 2,5 da gelişim gösterdiği, düşük pH değerine dirençli olduğu bulunmuştur. Silva vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada, *Sacc. cerevisiae* maya izolatının pH 2,5 değerinde gelişemediği bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada *Kluy. marxianus* TEM-O2Y izolatının pH 4'de geliştiği belirlenmiş olup, bu çalışmada da tüm *Kluy. marxianus* izolatları bu pH değerinde gelişmiştir (Gürkan Özlü vd., 2022). *Kaza. unispora* ve *Sacc. cerevisiae* izolatlarının pH 2, pH 3, pH4 ve pH 5 değerlerindeki dirençleri incelenmiş ve *Kaza. unispora* izolatı dışındaki tüm *Sacc. cerevisiae* suşlarının pH 2'de gelişemediği, diğer pH değerlerinde ise hepsinin geliştiği görülmüştür. Bu çalışmaya bakıldığında ise sonuçların benzer olduğu, pH 2'de *Kaza. unispora* 546 izolatı dışındaki tüm *Kaza. unispora* ve *Sacc. cerevisiae* suşlarının gelişemediği, diğer pH'larda ise hepsinin geliştiği tespit edilmiştir (Azhar ve Munaim, 2019). Erseç ve Demirci (2023) tarafından yapılan çalışmada, 66 farklı *Sacc. cerevisiae* izolatlarının hepsinin pH 3 ve pH 4'e dirençli olduğu bulunmuş olup, bu çalışmadan elde edilen sonuçlarla uyumlu olduğu görülmüştür.

Tablo 48. İzole Edilen Kefir Bakterilerinin Farklı pH Değerlerindeki Gelişimi

İzolat No	pH				İzolat No	pH			
	2	3	4	5		2	3	4	5
1	-	-	+	+	67	-	-	+	+
2	-	-	+	+	68	-	-	+	+
4	-	-	+	+	69	-	-	+	+
5	-	-	-	+	70	-	-	+	+
6	-	-	-	+	72	-	-	+	+
7	-	-	+	+	73	-	-	+	+
8	-	-	-	+	74	-	-	-	+
9	-	-	-	+	75	-	-	-	+
10	-	-	-	+	76	-	-	-	+
11	-	-	+	+	77	-	-	+	+
14	-	-	+	+	78	-	-	-	+
15	-	-	-	+	79	-	-	-	+
16	-	-	+	+	80	-	-	+	+
17	-	-	+	+	81	-	-	-	+
18	-	-	+	+	83	-	-	-	+
19	-	-	-	+	84	-	-	+	+
20	-	-	-	+	85	-	-	+	+
22	-	-	-	-	86	-	-	+	+
23	-	-	+	+	87	-	-	+	+
24	-	-	+	+	88	-	-	+	+
25	-	-	-	+	89	-	-	-	+
26	-	-	-	+	90	-	-	+	+
27	-	-	+	+	91	-	-	+	+
29	-	-	+	+	92	-	-	-	+
30	-	-	+	+	93	-	-	+	+
31	-	-	+	+	94	-	-	+	+
34	-	-	+	+	95	-	-	+	+
35	-	-	+	+	96	-	-	+	+
36	-	+	+	+	97	-	-	-	+
37	-	-	-	+	98	-	-	-	+
38	-	-	-	+	99	-	-	+	+
39	-	-	-	+	100	-	-	+	+
41	-	-	+	+	101	-	-	+	+
42	-	-	-	+	102	-	-	+	+
43	-	-	+	+	105	-	-	+	+
44	-	-	+	+	106	-	-	+	+
45	-	-	+	+	107	-	-	+	+
46	-	-	+	+	109	-	-	+	+
47	-	-	-	+	110	-	-	+	+
48	-	-	-	+	111	-	-	+	+
49	-	-	-	+	112	-	-	+	+
50	-	-	-	+	113	-	-	-	+
51	-	-	+	+	114	-	-	-	+
52	-	-	-	+	115	-	-	+	+
53	-	-	+	+	116	-	-	-	+
54	-	-	-	+	117	-	-	-	+
55	-	-	+	+	202	-	-	+	+
56	-	-	+	+	203	-	-	+	+
57	-	-	+	+	204	-	-	+	+
59	-	-	+	+	205	-	-	+	+
60	-	-	-	+	206	-	-	+	+
61	-	-	+	+	207	-	-	+	+
62	-	-	+	+	208	-	-	+	+
63	-	-	-	+	209	-	-	+	+
64	-	-	+	+	213	-	-	+	+
65	-	-	+	+	214	-	-	+	+
66	-	-	+	+	225	-	-	+	+

Tablo 48. Devamı

İzolat No	pH				İzolat No	pH			
	2	3	4	5		2	3	4	5
226	-	-	+	+	482	-	-	+	+
227	-	-	+	+	483	-	-	+	+
230	-	-	-	-	484	-	-	-	+
232	-	-	-	+	301	-	-	+	+
233	-	-	+	+	302	-	-	+	+
238	-	-	+	+	303	-	-	+	+
239	-	-	-	+	304	-	-	+	+
246	-	-	+	+	305	-	-	+	+
247	-	-	+	+	306	-	-	+	+
249	-	-	+	+	308	-	-	+	+
250	-	-	+	+	310	-	-	-	+
252	-	-	+	+	329	-	-	-	+
253	-	-	+	+	330	-	-	+	+
255	-	-	+	+	335	-	-	+	+
256	-	-	+	+	337	-	-	-	+
258	-	-	+	+	339	-	-	-	+
259	-	-	+	+	345	-	-	+	+
260	-	-	+	+	350	-	-	+	+
261	-	-	+	+	354	-	-	+	+
267	-	-	+	+	357	-	-	+	+
268	-	-	+	+	358	-	-	-	+
275	-	-	+	+	362	-	-	-	+
279	-	-	+	+	366	-	-	+	+
280	-	-	+	+	367	-	-	+	+
281	-	-	+	+	370	-	-	+	+
283	-	-	+	+	373	-	-	+	+
286	-	-	+	+	375	-	-	+	+
288	-	-	-	-	376	-	-	+	+
289	-	-	-	-	378	-	-	+	+
292	-	-	-	-	379	-	-	+	+
294	-	-	-	-	381	-	-	+	+
296	-	-	+	+	383	-	-	+	+
297	-	-	-	+	384	-	-	-	+
299	-	-	-	+	385	-	-	+	+
450	-	-	-	+	387	-	-	+	+
451	-	-	+	+	388	-	-	+	+
452	-	-	+	+	391	-	-	+	+
454	-	-	+	+	392	-	-	+	+
457	-	-	+	+	394	-	-	+	+
458	-	-	+	+	398	-	-	+	+
459	-	-	+	+	399	-	-	+	+
463	-	+	+	+	650	-	-	-	+
466	-	-	+	+	653	-	-	-	-
467	-	-	+	+	654	-	-	-	-
468	-	-	+	+	661	-	-	-	-
469	-	-	+	+	662	-	-	+	+
475	-	-	+	+	663	-	-	+	+
476	-	-	-	-	664	-	-	-	-
477	-	-	+	+	665	-	-	-	+
478	-	-	+	+	666	-	-	-	+
479	-	-	+	+	667	-	-	+	+
480	-	-	-	-	668	-	-	+	+
481	-	-	+	+					

Tablo 49. İzole Edilen Kefir Mayalarının Farklı pH Değerlerinde Gelişimi

İzolat No	pH				İzolat No	pH			
	2	3	4	5		2	3	4	5
502	-	+	+	+	568	-	+	+	+
503	-	+	+	+	569	-	+	+	+
504	-	+	+	+	571	-	+	+	+
505	-	+	+	+	572	-	+	+	+
506	-	+	+	+	573	-	+	+	+
507	-	+	+	+	575	-	+	+	+
510	-	+	+	+	576	-	+	+	+
511	-	+	+	+	577	-	+	+	+
512	-	+	+	+	578	-	+	+	+
515	-	+	+	+	579	-	+	+	+
516	-	+	+	+	581	-	+	+	+
517	-	+	+	+	583	-	+	+	+
518	-	+	+	+	585	-	+	+	+
519	-	+	+	+	586	-	+	+	+
520	-	+	+	+	587	-	+	+	+
521	-	+	+	+	588	-	+	+	+
522	-	+	+	+	590	-	+	+	+
523	-	+	+	+	591	-	+	+	+
524	-	+	+	+	592	-	+	+	+
526	+	+	+	+	593	-	+	+	+
527	-	+	+	+	594	-	+	+	+
528	-	+	+	+	596	-	+	+	+
529	-	+	+	+	597	-	+	+	+
530	-	+	+	+	598	-	+	+	+
531	-	+	+	+	599	-	+	+	+
532	-	+	+	+	600	-	+	+	+
533	-	+	+	+	601	-	+	+	+
534	-	+	+	+	602	-	+	+	+
536	-	+	+	+	603	-	+	+	+
537	-	+	+	+	604	-	+	+	+
538	-	+	+	+	605	-	+	+	+
539	-	+	+	+	607	-	+	+	+
540	-	+	+	+	608	-	+	+	+
541	-	+	+	+	609	-	+	+	+
542	-	+	+	+	610	-	+	+	+
543	-	+	+	+	612	-	+	+	+
544	-	+	+	+	613	-	+	+	+
545	+	+	+	+	614	-	+	+	+
546	+	+	+	+	615	-	+	+	+
547	+	+	+	+	616	-	+	+	+
548	-	+	+	+	617	-	+	+	+
549	-	+	+	+	618	-	+	+	+
550	-	+	+	+	619	-	+	+	+
552	-	+	+	+	620	-	+	+	+
553	-	+	+	+	621	-	+	+	+
554	-	+	+	+	622	-	+	+	+
555	-	+	+	+	623	-	+	+	+
556	-	+	+	+	624	-	+	+	+
557	-	+	+	+	625	-	+	+	+
558	-	+	+	+	627	-	+	+	+
559	-	+	+	+	628	-	+	+	+
561	-	+	+	+	629	-	+	+	+
563	-	+	+	+	630	-	+	+	+
564	-	+	+	+	631	-	+	+	+
566	-	+	+	+	632	-	+	+	+

Glikozdan gaz oluşumu

İzolatların homofermentatif veya heterofermentatif karakteri, gaz (CO₂) üretilip üretilmemeleri dikkate alınarak incelenir (Bennani vd., 2017). Gaz üretimi hava kabarcıklarının ortaya çıkmasıyla kendini gösterir, gaz üreten bakteriler heterofermentatif, diğer bakteriler ise homofermentatif olarak değerlendirilir (Hamdaoui vd., 2023). Bu çalışmada bakteri izolatlarının glikozdan gaz oluşumu incelendiğinde 42 izolat pozitif sonuç verirken 177 izolat glikozdan gaz oluşturmamıştır (Tablo 50). Gaz oluşumu gösteren ve gösteremeyen izolatlar Şekil 31’de gösterilmiştir.

Yapılan diğer çalışmalarda, yoğurt bakterilerinin glikozdan gaz oluşumuna bakılmış ve izolatların gaz oluşturmadağı görülmüştür (Aktaş vd., 2022, Aktaş ve Çetin, 2024). Bennani vd. (2017) *Lc. lactis* izolatlarının homofermentatif olup gaz oluşturmadağı belirtmiştir. Bizim çalışmamızdaki *Lc. lactis* izolatlarının çoğunun homofermentatif olduğı bulunmuştur. *Lc. lactis* suşu genellikle homofermentatif bir LAB türü olarak kabul edilmesine rağmen, heterofermentatif metabolizma için gerekli olan ve pentozların parçalanmasında rol oynayan fosfoketolaz enzimini kodlayan *ptk* genine sahiptir (Golomb ve Marco, 2015). Bu yüzden de bizim çalışmamızdaki bazı *Lc. lactis* izolatları heterofermentatif olarak tespit edilmiştir. *Lcb. paracasei* ve *Lc. lactis* izolatlarının içinde bulunduğı bir çalışmada, izolatların gaz oluşturmadağı bulunmuştur (Aktaş ve Erdoğan, 2022).



Şekil 31. Gaz oluşumu gösteren (A) ve gösteremeyen izolatlar

Tablo 50. Bakteri İzolatlarının Glikozdan Gaz Oluşturma Yeteneği

İzolat No	Glikozdan gaz oluşumu	İzolat No	Glikozdan gaz oluşumu	İzolat No	Glikozdan gaz oluşumu
1	-	44	-	80	+
2	-	45	+	81	-
4	-	46	-	83	-
5	-	47	-	84	-
6	-	48	-	85	-
7	-	49	-	86	-
8	-	50	-	87	+
9	-	51	-	88	+
10	-	52	-	89	-
11	+	53	-	90	+
14	-	54	-	91	+
15	-	55	-	92	-
16	-	56	-	93	-
17	+	57	-	94	+
18	+	59	-	95	+
19	-	60	+	96	+
20	+	61	+	97	-
22	-	62	+	98	-
23	-	63	+	99	-
24	-	64	-	100	+
25	-	65	-	101	-
26	+	66	-	102	-
27	-	67	-	105	-
29	-	68	-	106	+
30	-	69	-	107	-
31	-	70	+	109	-
34	-	72	+	110	-
35	-	73	-	111	+
36	+	74	-	112	+
37	-	75	-	113	+
38	-	76	+	114	-
39	-	77	-	115	+
41	-	78	+	116	+
42	-	79	-	117	+
43	-				

Tablo 50. Devamı

İzolat No	Glikozdan gaz oluşumu	İzolat No	Glikozdan gaz oluşumu	İzolat No	Glikozdan gaz oluşumu
202	+	289	-	337	-
203	-	292	-	339	-
204	-	294	-	345	-
205	-	296	-	350	-
206	-	297	-	354	-
207	-	299	-	357	-
208	-	450	-	358	-
209	-	451	-	362	-
213	-	452	-	366	-
214	-	454	-	367	-
225	-	457	-	370	-
226	-	458	-	373	-
227	-	459	-	375	-
230	-	463	-	376	-
232	-	466	-	378	-
233	-	467	-	379	-
238	-	468	-	381	-
239	-	469	-	383	-
246	-	475	-	384	-
247	-	476	-	385	-
249	-	477	-	387	-
250	-	478	-	388	-
252	+	479	-	391	-
253	-	480	+	392	-
255	-	481	+	394	-
256	-	482	-	398	-
258	-	483	+	399	-
259	-	484	+	650	-
260	-	301	-	653	-
261	-	302	-	654	-
267	-	303	-	661	+
268	+	304	-	662	-
275	-	305	-	663	-
279	-	306	-	664	+
280	-	308	-	665	-
281	-	310	-	666	-
283	-	329	-	667	-
286	+	330	-	668	-
288	-	335	+		

Arjinin hidrolizi

Bakteri izolatlarının arjinin hidroliz etme özelliği incelendiğinde 134 izolat pozitif sonuç verirken 85 izolat arjinin hidrolize etmemiştir. Şekil 32’de pozitif ve negatif sonuç veren izolatların görüntüsü, Tablo 51’de bakteri izolatlarının arjinin sonuçları verilmiştir.

Literatüre bakıldığında arjinin negatif sonuçlar elde edildiği çalışmalar görülmüştür (Kumar ve Kumar, 2015). Aktaş ve Çetin (2024) tarafından yapılan çalışmada 73 yoğurt bakterisinin hiçbirisinin arjinini hidrolize edemediği bulunmuştur. Aktaş ve Erdoğan (2022) tarafından yapılan çalışmada, *Lcb. paracasei* izolatlarının arjinini hidrolize etmediği, *Lc. lactis* izolatlarının arjinini hidrolize ettiği bulunmuş olup bu çalışmada elde edilen sonuçlara uygunluk gösterdiği görülmüştür. Yapılan bir çalışmada bir laktik asit bakterisi dışındaki tüm izolatların arjinin negatif olarak bulunmuştur (Aktaş vd., 2022). *Leuconostoc* bakterileri arjinin dihidrolaz enzimine sahip olmadıkları için arjininden amonyak üretemezler (Hamdaoui vd., 2023) ve bu çalışmadaki tüm *Leu. mesenteroides* izolatlarının tümü arjinin negatif sonuç vermiştir.



Şekil 32. Pozitif (A) ve negatif (B) arjinin hidrolizi

Tablo 51. Bakteri İzolatlarının Arjinin Hidrolizi

İzolat No	Arjinin hidrolizi	İzolat No	Arjinin hidrolizi	İzolat No	Arjinin hidrolizi
1	-	44	-	80	+
2	-	45	+	81	+
4	-	46	+	83	-
5	+	47	+	84	-
6	+	48	-	85	-
7	-	49	+	86	-
8	+	50	+	87	+
9	+	51	+	88	+
10	-	52	+	89	-
11	+	53	+	90	-
14	-	54	+	91	-
15	+	55	-	92	-
16	+	56	+	93	-
17	-	57	-	94	+
18	-	59	-	95	-
19	+	60	-	96	-
20	-	61	+	97	+
22	+	62	-	98	+
23	+	63	-	99	-
24	-	64	-	100	-
25	+	65	-	101	+
26	-	66	-	102	+
27	-	67	-	105	-
29	-	68	-	106	-
30	-	69	-	107	-
31	-	70	-	109	-
34	-	72	-	110	-
35	-	73	-	111	-
36	-	74	-	112	-
37	-	75	+	113	-
38	+	76	+	114	-
39	-	77	-	115	-
41	+	78	-	116	-
42	-	79	+	117	-
43	+				

Tablo 51. Devamı

İzolot No	Arjinin hidrolizi	İzolot No	Arjinin hidrolizi	İzolot No	Arjinin hidrolizi
202	+	289	+	337	+
203	+	292	-	339	+
204	+	294	+	345	+
205	+	296	+	350	+
206	+	297	+	354	+
207	+	299	+	357	-
208	+	450	+	358	+
209	+	451	+	362	+
213	+	452	+	366	+
214	+	454	+	367	+
225	+	457	+	370	+
226	+	458	+	373	+
227	+	459	+	375	+
230	+	463	+	376	+
232	+	466	+	378	+
233	+	467	+	379	+
238	+	468	+	381	+
239	+	469	+	383	+
246	+	475	+	384	+
247	+	476	+	385	-
249	-	477	+	387	-
250	+	478	+	388	+
252	+	479	+	391	+
253	+	480	-	392	+
255	+	481	-	394	+
256	+	482	-	398	-
258	-	483	+	399	+
259	+	484	-	650	+
260	+	301	+	653	-
261	+	302	+	654	-
267	+	303	+	661	-
268	+	304	+	662	+
275	+	305	+	663	+
279	+	306	+	664	-
280	+	308	+	665	-
281	+	310	-	666	-
283	+	329	+	667	+
286	-	330	+	668	+
288	+	335	-		

İzolatların EPS üretim yeteneğinin belirlenmesi

Bakteriyel büyüme sıklıkla önemli ekolojik ve fizyolojik işlevlere hizmet eden ekzopolisakkaritlerin (EPS) üretimi ile ilişkilidir. Mikrobiyal EPS, hücre yüzeyine sıkıca yapışabilen veya hücrenin çevresindeki ortamda hücre dışı balçık olarak salınabilen çeşitli salgılanmış polimerler grubunu oluşturur (Zajšek vd., 2011). Laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen EPS'ler, GRAS özellikleri, kefir, ekşi krema, yoğurt, peynir ve süt bazlı tatlılar gibi fermente süt ürünlerinin üretiminde reolojik özellikleri iyileştirmesi nedeniyle önemli bir role sahiptir (Duboc ve Mollet, 2001, Frengova vd., 2002, Zajšek vd., 2011, Soyuçok vd., 2016). Sindirim sistemindeki bakteriler tarafından parçalanamayan EPS'ler prebiyotik özellik gösterirler (Soyuçok vd., 2016). Karakteristik fonksiyonel özellikleri nedeniyle LAB ekzopolisakkaritleri stabilize edici, viskozite değiştirici ve jelleştirici ajanlar olarak kullanılmaktadır (Ahmed vd., 2013b). Kefiran, eşit oranlarda glikoz ve galaktozdan oluşan, kefir danesinin içinde bulunan bir ekzopolisakkarit yapısıdır (Duboc ve Mollet, 2001, Zajšek vd., 2011).

EPS üretiminden sorumlu olan genlerden *epsA*, *epsB*, *gtf* ve *p-gtf* spesifik primerler kullanılarak ilgili suşlar taranmıştır. Tablo 52'de sadece EPS üretim genlerine sahip izolatlar verilmiştir. *gtf* ve *p-gtf* genlerine bakteri izolatlarının hiçbirisi sahip değilken, *epsA* genine sadece 38 ve 478 numaralı izolatlar, *epsB* genine 233, 246, 247, 250, 252, 260, 275, 297, 366, 373, 375, 378, 383, 385, 467 ve 663 numaralı izolatlar sahiptir. Önceki çalışmalara bakıldığında, LAB'lerin EPS üretme genlerine sahip olduğu görülmüştür (Low vd., 1998, Provencher vd., 2003, Palomba vd., 2012, Dertli vd., 2016). Dertli vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, *Leu. mesenteroides* N6 izolatının *epsB* genine sahip olmadığı, *epsA*, *gtf* ve *p-gtf* genlerine ise sahip olduğu görülmektedir. EPS genine sahip bakteri izotlarının hepsinin (38 numaralı izolat hariç) *Lc. lactis* suşu olduğu görülmektedir. *Lc. lactis* izolatlarının EPS genlerine sahip olduğu Kleerebezem vd. (1999) tarafından rapor edilmiştir.

Tablo 52. EPS Üretimiyle İlgili Genlerin Taranması

EPS Üretiminde Rol Oynayan Genler	İzolat No
<i>epsA</i>	38, 478
<i>epsB</i>	233, 246, 247, 250, 252, 260, 275, 297, 366, 373, 375, 378, 383, 385, 467, 663
<i>gtf</i>	-
<i>p-gtf</i>	-

Üretimde Kullanılan Suşların Seçimi

Çalışmada üretilen kefirler için seçilecek suşlar belirlenirken Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Anonim, 2022b) ve Codex Alimentarius Standard'ının (Anonim, 2022a) kefir tanımına dikkat edilmiştir. İlgili tebliğ ve standartta “*Len. kefir*, *Lb. kefiranofaciens*, *Kluy. marxianus* ve *Sacc. cerevisiae* suşları kefirde bulunması gereken zorunlu mikroorganizmalara ilave olarak ayrıca kefir *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* bakteri cinslerine ait türleri de bulundurabilir” ifadesi yer almaktadır. Bu nedenle, *Leu. mesenteroides*, *Lc lactis* ve *A. cibinongensis* türleri de çalışmada kullanılmıştır. *Lb. kefiranofaciens* 74 ve *A. cibinongensis* 286 numaralı izolatlar, çalışmada elde edilen tek suş olduğundan virülans faktör, hemolitik ve DNase aktivitesi sonuçları dikkate alınarak üretim için tercih edilmişlerdir. *Len. kefir*, *Lc. lactis*, *Leu. mesenteroides*, *Kluy. marxianus* ve *Sacc. cerevisiae* izolatları ise çalışmada çok sayıda izole edilmiş olup, bu suşların tüm starter (farklı sıcaklık ve pH’da gelişim, glikozdan gaz oluşumu, arjinin hidrolizi, ekzopolisakkarit üretimi) ve probiyotik (safra direnç, simüle mide ortamına tolerans, antagonistik aktivite, oto-agregasyon ve ko-agregasyon, hidrofobisite, antibiyotik direnci, virülans faktör, hemolitik aktivite, safra tuzlarını hidrolize etme yeteneği ve DNase aktivitesi) özellikleri dikkate alınarak seçim yapılmıştır. Sonuç olarak; izole edilen suşlar starter ve probiyotik özellikleri değerlendirilerek en iyi ürün üretilmesi hedeflenmiş ve *Len. kefir* 34, *Lb. kefiranofaciens* 74, *Lc. lactis* 249, *A. cibinongensis* 286, *Leu. mesenteroides* 117, *Kluy. marxianus* 502 ve *Sacc. cerevisiae* 568 suşları kullanılarak üretimin yapılması uygun görülmüştür.

Elde edilen izolatlar kullanılarak kefir üretimi ve üretilen kefirlerin bazı özelliklerinin incelenmesi

Çalışma kapsamında Türkiye’nin farklı bölgelerinden toplam 30 kefir danesinden izole edilen suşların probiyotik ve teknolojik özellikleri incelenmiş ve kefir üretimi için uygun suşlar belirlenmiştir. Üretilen kefirler ve kullanılan suşlar Tablo 53’de verilmiştir. Kefir üretimi için belirlenen izolatlar fermente ürünler tebliğine uygun olarak seçilmiştir. Buna göre K₁ kefir örneği bakteriler ve mayalardan oluşmuş olup 34, 74, 117, 249 ve 286 numaralı bakteri izolatları ve 502 ve 568 numaralı maya izolatları kullanılmıştır. K₂ kefir örneği ise 34, 74, 117, 249 ve 286 numaralı bakteri izolatlarından oluşmuştur. Kefirlerin depolama periyodu boyunca özelliklerinin karşılaştırılabilmesi için piyasadan temin edilebilen ve ulusal zincir marketlerde satışa sunulan ticari kefir kültürü kullanılmış, temin edilen bu kültür ile aynı süt ve fermantasyon şartlarında kontrol kefir üretimi gerçekleştirilmiştir. Kefir üretimi için, Atatürk Üniversitesi Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi’nden inek sütü temin edilmiştir. Kefirler, Şekil 6’da gösterilen üretim aşamaları dikkate alınarak üretilmiştir.

Tablo 53. Çalışmada Üretilen Kefir Çeşitleri ve Kullanılan İzolatlar

Kefir Çeşidi	Kefir Üretiminde Kullanılan İzolatlar	
	Bakteri İzolatları	Maya İzolatları
Bakteri+Maya Kefiri (K ₁)	34, 74, 117, 249 ve 286	502 ve 568
Bakteri Kefiri (K ₂)	34, 74, 117, 249 ve 286	-
Kontrol Kefiri (C)	Ticari Kefir Kültürü	

Kefirlerin mikrobiyolojik özellikleri

Kefirin sahip olması gereken mikrobiyolojik özellikleri Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği ve Codex Alimentarius Standard'ına tarafından belirlenmiştir (Anonim, 2022a, Anonim, 2022b). Bu nedenle, üretilen kefir örnekleri 21 gün depolanarak mikrobiyolojik özellikleri ortaya koyulmuş ve elde edilen sonuçlar Tablo 54'de gösterilmiştir. Tabloya bakıldığında bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir, sadece bakterilerden oluşan kefir ve kontrol kefirin laktik basil sayılarının sırasıyla 8,29-8,81; 8,61-9,09 ve 7,60-7,79 log kob/mL değerleri arasında olduğu görülmüştür. Laktik kok sayıları ise K₁, K₂ ve kontrol örneklerinin sırasıyla 8,57-8,82; 8,17-9,14 ve 8,11-8,55 log kob/mL olarak bulunmuştur. Maya sayılarına bakıldığında, K₁ ve kontrol kefir örneğinde sırasıyla 4,72-5,39 ve <2 ve 3,74 log kob/mL oranında maya tespit edilmiştir. K₂ örneğine herhangi bir maya suşu ilave edilmediği için 21 günlük depolama süresi boyunca maya gelişimi gözlenmemiştir. Ayrıca kefir örneklerinin üretimi esnasında hijyen koşullarının indikatörü olarak, koliform grubu bakteriler açısından araştırılmış ve depolama süresince hiçbir kefir örneğinin koliform bakteri içermediği görülmüştür. Çalışmada elde edilen laktik basil ve laktik kok sayıları tüm örnekler için 10⁷ kob/mL'den daha yüksek olup Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği ve Codex Alimentarius Standard'ına uygun bulunmuştur (Anonim, 2022a, Anonim, 2022b). Maya sayıları açısından ise; K₁ örneğinin her iki standarda da uygun olduğu, ancak kontrol örneğinin ise Codex Alimentarius Standard'ına uygun olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 54. Kefir Örneklerinin Depolama Süresince Mikrobiyolojik Özellikleri (log kob/mL)

Örnek	Depolama süresi (gün)	Mikrobiyolojik Özellikler (Ort±Ss)			
		Laktik Basil	Laktik Kok	Maya	Koliiform
K ₁	1	8,30±0,01	8,70±0,21	4,72±0,04	<1
	7	8,81±0,02	8,80±0,04	5,39±0,13	<1
	14	8,29±0,11	8,57±0,04	5,01±0,44	<1
	21	8,79±0,08	8,82±0,03	4,87±0,16	<1
K ₂	1	8,69±0,34	8,17±0,08	<2	<1
	7	9,09±0,08	9,14±0,01	<2	<1
	14	8,61±0,02	8,76±0,03	<2	<1
	21	8,70±0,02	8,74±0,08	<2	<1
C	1	7,60±0,36	8,28±0,33	<2	<1
	7	7,64±0,07	8,55±0,08	3,74±0,06	<1
	14	7,73±0,12	8,11±0,10	3,30±0,42	<1
	21	7,79±0,00	8,38±0,01	3,39±0,55	<1

K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği;
Ort: Ortalama değer; ±, Ss: Standart sapma

Magra vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, %3,5 yağ içeren UHT süt içinde %3,0 oranında kefir danesi ile fermantasyon işlemi sonunda başlangıçtaki laktik basil, laktik kok ve maya sayısı 8,27, 9,08 ve 6,51 log kob/g olurken, 14. gün sonunda 7,95, 8,11 ve 6,60 log kob/g olarak bulunmuştur. Kök-Taş vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, %3 kefir starter kültürü ile yapılan kefirin 1. ve 21.günlerdeki laktik basil, laktik kok ve maya sayısı sırasıyla 9,27, 9,29 ve 4,77; 8,89, 8,92 ve 5,00 log kob/mL olup, bu çalışmadaki kefirlerin sahip olduğu mikrobiyolojik değerlerden yüksektir. Yapılan bir çalışmada 0. günde laktik kok, laktik basil ve maya sayıları sırasıyla 7,27, 8,15 ve 4,70 olarak bulunurken 15. günde 8,23, 8,51 ve 5,34 olarak bulunmuştur (Öner vd., 2010). Elde edilen değerler maya sonuçları hariç bu çalışmadaki mikrobiyolojik verilerden düşük olarak bulunmuştur. Irigoyen vd. (2005) yapmış olduğu çalışmada, laktobasil ve laktokok sayılarının 14. güne kadar yaklaşık olarak 1,5 log birim düşmüş olduğunu ve daha sonra 28. güne kadar sayıların sabit kaldığını belirtmektedir. Bizim çalışmamızda ise depolamanın 21. gününde başlangıca göre LAB sayıları artmıştır. Bu sonuç Tomar vd. (2020) ile uyumludur.

Varyans analizi yapılarak çalışmada üretilen kefirlerin depolama süresi boyunca laktik basil, laktik kok ve maya sayıları arasındaki istatistiksel fark ortaya koyulmuştur (Tablo 55).

Tablo 55. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Mikrobiyolojik Özelliklerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Laktik Basil		Laktik Kok		Maya	
		KO	F	KO	F	KO	F
Kefir Çeşidi (A)	2	2,608	107,648**	0,39	24,926**	49,957	831,172**
Depolama (B)	3	0,15	6,233**	0,23	14,671**	2,579	42,902**
A × B	6	0,06	2,623	0,09	5,804**	1,852	30,812**
Hata	12	0,02		0,02		0,06	
Genel	24						

** çok önemli ($p<0,01$), SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

Varyans analizi sonucuna bakıldığında, laktik basil üzerine kefir çeşidi ve depolama interaksiyonunun etkisi $p<0,01$ düzeyinde önemli olduğu bulunurken, kefir çeşidi × depolama interaksiyonunun etkili olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Tablo 56’da kefir örneklerine ait laktik sayım sonuçları ortalamaların ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde depolama süresince en düşük ortalama laktik basil içeriği 7,69 log kob/mL olarak kontrol örneğinde, K₁ ve K₂ örneklerinin ise sırasıyla 8,54 ve 8,77 log kob/mL laktik basil içeriğine sahip olduğu belirlenmiş olup, bu değerler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 56. Kefir Örneklerine Ait Laktik Basil Sayım Sonuçları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Kefir Çeşidi	n	Laktik Basil Sayısı (log kob/mL)*
K ₁	8	8,54±0,27 ^b
K ₂	8	8,77±0,24 ^a
C	8	7,69±0,17 ^c

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; ±: Standart sapma

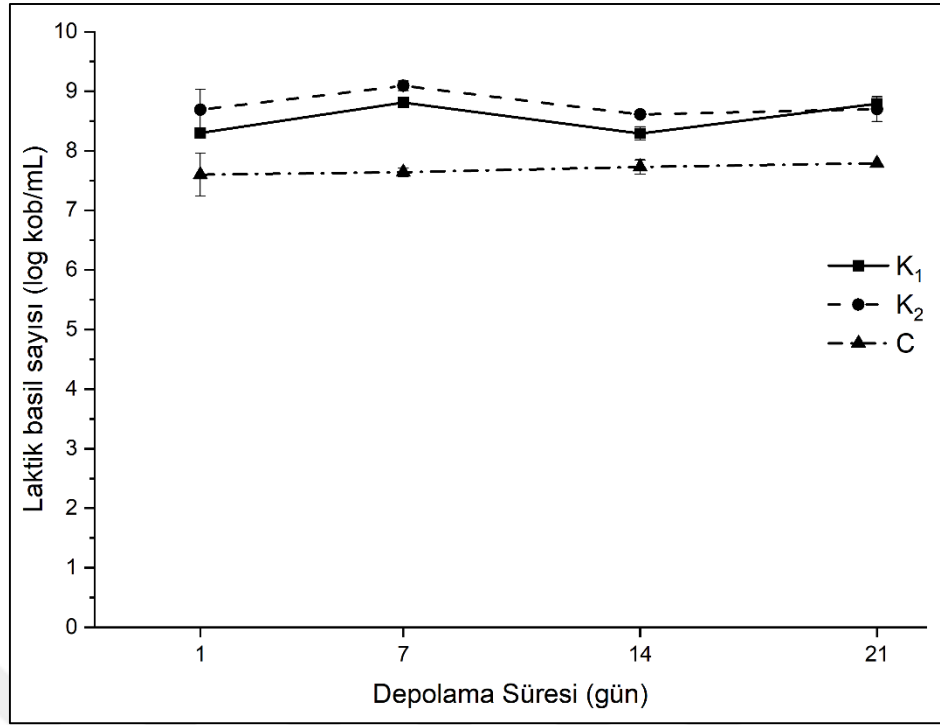
Tablo 57’de ise kefir örneklerinin depolama süresince laktik basil sayım sonuçlarının ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları verilmiştir. Tablo incelendiğinde, depolama süresince kefir örneklerinin laktik basil içeriği 1. günde 8,20 log kob/mL olurken 21. günde 8,42 log kob/mL olmuştur. En düşük laktobasil sayısı 1.günde, en yüksek laktobasil sayısı ise 7. günde (8,51 log kob/mL) tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonucun literatürle uyumlu olduğu bulunmuştur (Tomar, 2015).

Tablo 57. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Laktik Basil Sayım Sonuçları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama süresi (gün)	n	Laktik Basil Sayısı (log kob/mL)*
1	6	8,20±0,54 ^c
7	6	8,51±0,69 ^a
14	6	8,21±0,40 ^b
21	6	8,42±0,49 ^a

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; ±: Standart sapma

Kefir örneklerinin laktik basil içerikleri üzerine kefir çeşidi × depolama interaksyonunun istatistiksel olarak etkili olmadığı belirlenmiştir (p>0,05). Kefir örneklerinin depolama süresince laktik basil sonuçları Şekil 33’te verilmiştir. Şekil incelendiğinde kontrol kefir örneklerinin laktik basil sayılarının depolama süresince en düşük olduğu açıkça görülmektedir.



Şekil 33. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca laktik basil sayım sonucu (K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)

Kefir örneklerinin laktik kok sayıları üzerine, kefir çeşidi, depolama ve kefir çeşidi × depolama interaksiyonunun önemli derecede etkili olduğu ($p < 0,01$) bulunmuştur. Kefir örneklerinin laktik kok sayım sonuçları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 58’de verilmiştir. Tablo incelendiğinde, depolama süresince laktik basillerde olduğu gibi kontrol (C) örneğinin en düşük laktik kok içerdiği (8,33 log kob/mL) görülmektedir. K₁ ve K₂ örneklerinin ise sırasıyla 8,72 ve 8,70 log kob/mL laktik kok içerdiği tespit edilmiştir. K₁ örneğinin en yüksek laktik kok içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 58. Kefir Örneklerine Ait Laktik Kok Sayım Sonuçları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Kefir Çeşidi	n	Laktik Kok Sayısı (log kob/mL)*
K ₁	8	8,72±0,14 ^a
K ₂	8	8,70±0,37 ^a
C	8	8,33±0,22 ^b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; ±: Standart sapma

Tablo 59’da kefir örneklerinin depolama boyunca ortalama laktik kok sayım sonuçları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları verilmiştir. Buna göre, kefir örneklerinin 7. ve 21. gündeki ortalama laktik kok sayılarının istatistiksel olarak birbirinden

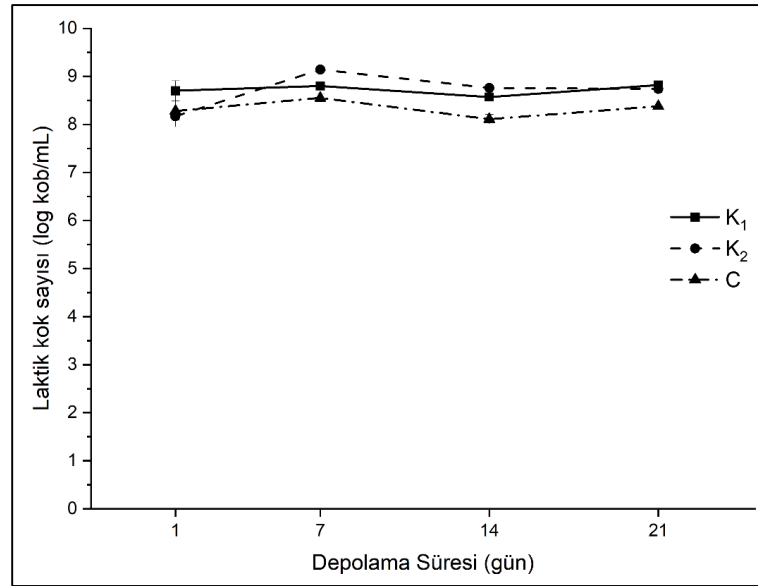
farklı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). 1. ve 14. gündeki ortalama laktik kok sayılarının ise istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Depolamanın 1. gününde laktik kok sayısı 8,38 log kob/mL olarak bulunurken 21. günde 8,65 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Genel olarak laktik kok sayısı önceki çalışmalarda depolama esnasında azalırken (Irigoyen vd., 2005, Ak, 2018, Sarıca, 2019) bu çalışmada tam olarak düşüş eğiliminde olmadığı görülmektedir.

Tablo 59. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Laktik Kok Sayım Sonuçları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama süresi (gün)	n	Laktik Kok Sayısı (log kob/mL)*
1	6	8,38±0,31 ^c
7	6	8,83±0,27 ^a
14	6	8,48±0,30 ^c
21	6	8,65±0,21 ^b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; $\pm$: Standart sapma

Kefir örneklerinin laktik kok içerikleri üzerine kefir çeşidi $\times$ depolama interaksiyonunun istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde etkili olduğu belirlenmiştir. Kefir örneklerinin depolama süresince laktik kok sonuçları Şekil 34’te verilmiştir. Şekil incelendiğinde K₂ kefir örneğinin laktik kok sayılarının depolama süresince en yüksek seviyelerde olduğu açıkça görülmektedir.



Şekil 34. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca laktik kok sayım sonucu (K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)

Kefir örneklerinin maya sayıları üzerine; kefir çeşidi, depolama ve kefir çeşidi × depolama interaksyonunun önemli derecede etkili olduğu ($p<0,01$) bulunmuştur. Kefir örneklerinin maya sayım sonuçları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 60'da gösterilmiştir. Tablo incelendiğinde, sadece bakterilerden oluşan K₂ örneğinde depolama süresince maya sayısı tespit edilmemiştir. K₁ ve C örneklerinin ise sırasıyla 5,00 ve 2,61 log kob/mL maya içerdiği belirlenmiştir.

Tablo 60. Kefir Örneklerine Ait Maya Sayım Sonuçları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Kefir Çeşidi	n	Maya Sayısı (log kob/mL)*
K ₁	8	5,00±0,32 ^a
K ₂	8	<1 ^c
C	8	2,61±1,64 ^b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; ±: Standart sapma

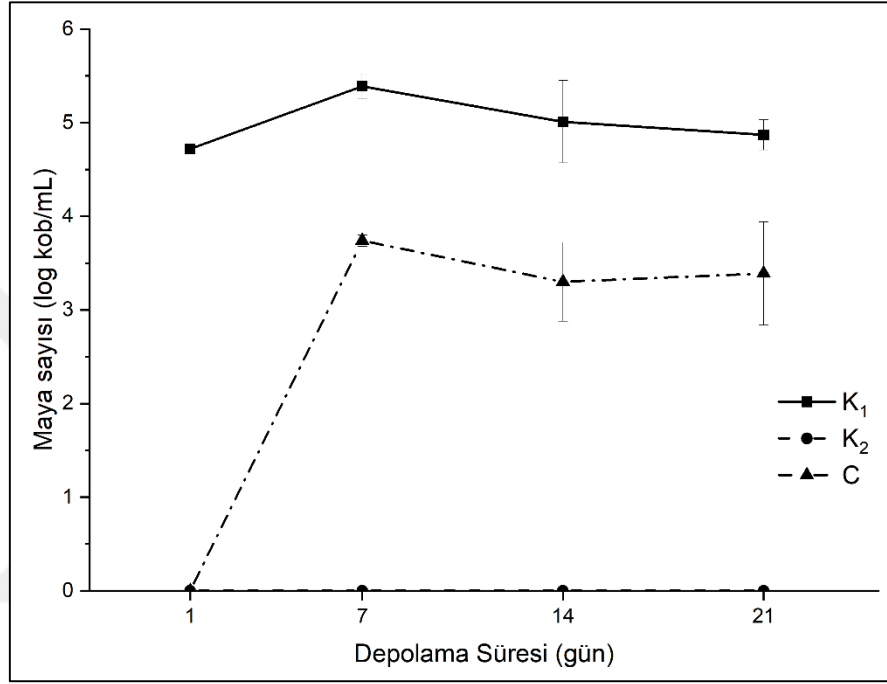
Tablo 61'de kefir örneklerinin depolama boyunca maya sayım ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları verilmiştir. Buna göre, kefir örneklerinin (K₁ ve Kontrol) 7., 14. ve 21. gündeki ortalama maya sayılarının istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığı tespit edilmiştir. 1. gündeki ortalama maya sayıları en düşük sayıya (1,57 log kob/mL) sahip olup, 21. gündeki maya sayısı 2,75 log kob/mL olarak bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada 15 günlük depolama sonunda maya sayısının 4,70 log kob/mL'den 5,34 log kob/mL'ye arttığı bulunmuştur (Öner vd., 2010). Bu çalışmada da depolamanın son gününde maya sayısının başlangıç seviyesine göre arttığı görülmektedir.

Tablo 61. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Maya Sayım Sonuçları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama süresi (gün)	n	Maya Sayısı (log kob/mL)*
1	6	1,57±2,43 ^b
7	6	3,04±2,47 ^a
14	6	2,77±2,29 ^a
21	6	2,75±2,25 ^a

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; ±: Standart sapma

Kefir örneklerinin maya içerikleri üzerine kefir çeşidi $\times$ depolama interaksiyonunun istatistiksel olarak etkili olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$). Şekil 35’de kefir örneklerinin depolama süresince maya sonuçları verilmiştir. Şekil incelendiğinde depolama boyunca K_1 örneğinin maya sayısı 7. günde artarken 14. ve 21. günde azalmıştır. Bu; Sarıca (2019) tarafından yapılan çalışma verileri ile uyumludur. K_2 kefir örneği sadece bakterilerden oluştuğu için maya tespit edilememiş, kontrol kefir örneğinin 1.gününde maya sayısı tespit edilemezken depolama süresince arttığı görülmüştür



Şekil 35. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca maya sayım sonucu (K_1 : Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K_2 : Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)

Depolama süresince elde edilen kefir örnekleri üzerinde yapılan korelasyon analizi sonuçları Ek-2’de sunulmuştur. Bu sonuçlara göre, kefir örneklerinin maya içerikleri ile su tutma kapasitesi orta düzeyde negatif yönde ($r=-,474$; $p<0,05$), kıvam katsayısı içeriği arasında orta düzeyde negatif yönde ($r=-,438$; $p<0,05$) ilişki olduğu belirlenmiştir. Kefir örneklerinin laktik basil içerikleri ile laktik kok sayısı, pH, % asitlik ve kremamsı/sütlü koku arasında güçlü düzeyde pozitif yönde (sırasıyla $r=,673$; $,730$; $,732$; ve $,626$; $p<0,01$), kıvam katsayısı, ağızda bıraktığı his ve köpürme arasında orta düzeyde pozitif yönde (sırasıyla $r=,521$; $,542$; ve $,517$; $p<0,01$), lezzet, renk ve görünüş, serum ayrılması ve genel kabul edilebilirlik arasında orta düzeyde pozitif yönde (sırasıyla $r=,486$; $,433$; $,425$ ve $,475$; $p<0,05$) ilişki olduğu tespit edilmiştir. Kefir örneklerinin laktik kok içerikleri ile pH arasında orta düzeyde negatif yönde ($r=-,452$; $p<0,05$), kıvam katsayısı ile orta düzeyde pozitif yönde ($r=,455$; $p<0,05$), köpürme ile güçlü düzeyde pozitif yönde ($r=,621$; $p<0,01$) ilişki bulunmuştur.

Kefirlerin fizikokimyasal özellikleri

Kefir üretiminde kullanılan sütün özelliklerine, toplam kuru maddeye, starter kültürün türüne ve miktarına, kefirin üretimindeki inkübasyon süresine ve sıcaklığına, depolama süresine ve koşullarına bağlı olarak kefirin fizikokimyasal özellikleri değişmektedir (Yüksekdağ ve Beyatlı, 2003, Al ve Yıldız, 2018, Setyawardani vd., 2020). Üründe jel oluşumu ile kıvamın artması; optimizasyon prosesi, ürün tasarımı ve kalite kontrolü için önemlidir (Setyawardani vd., 2020).

Asitlik, pH ve serum ayrılması fermente ürünlerin kalitesi üzerinde önemli etkiye sahip parametrelerdir (Aktaş vd., 2023). Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği ve Codex Alimentarius Standard'ına göre, kefirde asitlik laktik asit cinsinden en az %0,6 olmalıdır (Anonim, 2022a, Anonim, 2022b). Kefirin fiziksel özelliklerinden su tutma kapasitesi ve sinerezis pH düşüşünden etkilenir (Setyawardani vd., 2020). Çünkü kefirin daha yüksek asitliğe sahip olması daha kalın protein ağları, daha küçük ve düzensiz boşluklar ve daha büyük topaklara neden olmaktadır (Xiao vd., 2023).

Kefirin su tutma kapasitesi, suyu tutma eğilimi veya ürünün faz ayrışmasına karşı direncidir (Goncu vd., 2017). Asitlendirilmiş süt jellerinin kıvamı ve su tutma kapasitesi, fermente süt ürünlerinin kalitesiyle yakından ilişkilidir (Bensmira ve Jiang, 2012). Bu çalışmada üretilen kefir örnekleri 21 gün depolanmış ve depolanma süresince pH, asitlik, su tutma kapasitesi ve serum ayrılması değerleri belirlenmiştir (Tablo 62). Tablo incelendiğinde, K1, K2 ve kontrol kefir örneklerinin depolanma süresince pH değerleri sırasıyla 4,44-4,61, 4,26-4,34 ve 4,49-4,82 arasında, asitlik değerlerinin %0,77-0,78, %0,80-0,84 ve %0,72-0,78 arasında değiştiği bulunmuştur. Ayrıca kefir örneklerinin su tutma kapasitesi 21 günlük depolanma süresince %43,25-%60,76 arasında değişirken; serum ayrılmasının 6,75-10,25 mL arasında değiştiği gözlemlenmiştir.

Tablo 62. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca pH, Asitlik, Su Tutma Kapasiteleri ve Serum Ayrılması

Örnek	Depolama süresi (gün)	Fizikokimyasal Özellikler (Ort±Ss)			
		pH	% Asitlik	Su Tutma Kapasitesi (%)	Serum Ayrılması (mL)
K ₁	1	4,57±0,02	0,77±0,02	58,11±0,00	9,00±0,00
	7	4,61±0,02	0,77±0,00	43,25±0,93	9,00±0,00
	14	4,44±0,06	0,78±0,03	46,49±2,83	8,50±1,41
	21	4,45±0,02	0,78±0,02	46,92±3,14	10,25±0,35
K ₂	1	4,34±0,07	0,80±0,00	60,76±0,53	8,75±1,06
	7	4,29±0,01	0,84±0,03	47,27±2,69	9,50±0,00
	14	4,33±0,01	0,83±0,01	51,85±0,86	6,75±0,35
	21	4,26±0,03	0,84±0,02	50,97±1,24	8,75±0,35
C	1	4,82±0,01	0,72±0,02	54,99±0,45	10,01±0,01
	7	4,66±0,01	0,72±0,01	43,98±1,82	10,00±0,00
	14	4,67±0,01	0,78±0,01	47,74±1,95	9,50±0,71
	21	4,49±0,01	0,74±0,03	48,24±0,66	10,25±0,35

K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; Ort: Ortalama değer; Ss: Standart sapma

Kefirin depolanma süresi söz konusu olduğunda, 7 gün boyunca depolanan örneklerde pH'da düşüş gözlenirken (K₁ örneği hariç), K₁ örneğinin 14-21 ve kontrol örneğinin ise 7-14 günleri arasında depolama süresince pH değerinin yaklaşık olarak sabit kaldığı tespit edilmiştir. Fermantasyonun yedinci gününden sonra pH'ın sabit kalması, laktik asit bakterilerinin düşük pH değerlerine karşı duyarlılığına bağlanmaktadır (Magra vd., 2012). Bu durum, LAB sayısının azalmasına ve dolayısıyla kefirin daha fazla asidik hale gelmemesine neden olmaktadır (Irigoyen vd., 2005, Magra vd., 2012). Ayrıca, belirli depolama sürelerinden sonra pH'ın istikrarlı kalma eğilimi, Collar (1996) belirttiğine göre, laktik asit bakterileriyle karışık kültürlerde yetiştirilen mayaların varlığına bağlı olabilir. Bu mayalar, laktik ve asetik asit oluşumunu azaltabilir. Yoğurt gibi diğer fermente sütlerde depolamayla birlikte pH düşmesinin nedeni kültürdeki bakteriler tarafından laktozun parçalanması olurken kefirin depolamayla pH'sının değişmeme nedeni mayaların varlığı olduğu belirtilmiştir (Irigoyen vd., 2005).

Varyans analizi yapılarak çalışmada üretilen kefirlerin depolama süresi boyunca pH, % asitlik, su tutma kapasitesi ve serum ayrılması arasındaki istatistiksel fark ortaya koyulmuştur (Tablo 63). Varyans analizi sonuçlarına bakıldığında, pH değerleri için kefir çeşidi ve depolamanın $p<0,01$; kefir çeşidi $\times$ depolama interaksiyonunun ise $p<0,05$ düzeyinde önemli olduğu tespit edilmiştir. % Asitlik değerleri incelendiğinde ise kefir çeşidi $p<0,01$ düzeyinde etkili olurken, depolama ve kefir çeşidi $\times$ depolama interaksiyonunun etkili olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir. Su tutma kapasitesi ve serum ayrılması değerleri üzerine kefir çeşidi ve depolamanın $p<0,01$ düzeyinde etkili olduğu, kefir çeşidi $\times$ depolama interaksiyonunun ise etkili olmadığı ($p>0,05$) görülmüştür.

Tablo 63. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Fizikokimyasal Özelliklerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	pH		% Asitlik		Su Tutma Kapasitesi (%)		Serum Ayrılması (mL)	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Kefir Çeşidi (A)	2	0,26	110,014**	0,02	35,970**	42,577	14,080**	4,508	13,113**
Depolama (B)	3	0,03	13,940**	0,00	2,671	186,633	61,720**	2,594	7,547**
A $\times$ B	6	0,01	4,386*	0,00	1,290	2,503	0,828	0,75	2,182
Hata	12	0,00		0,00		3,024		0,34	
Genel	24								

* önemli ($p<0,05$), ** çok önemli ($p<0,01$), SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

Kefir örneklerine ait pH değerleri ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 64’de gösterilmiştir. Kefir çeşidinin pH değerleri üzerinde çok önemli derecede farklılığa neden olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Kefir örneklerinin depolama süresince pH değerlerinin ortalamasının en yüksek 4,66 (kontrol örneği), en düşük 4,30 (K_2 örneği) olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, K_1 , K_2 ve kontrol örneklerinin pH değerlerinin ortalamalarının istatistiksel olarak farklı olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Literatürde, kefir çeşidinin farklılığı nedeniyle pH değerlerinin depolama süresince incelendiği farklı çalışmaların olduğu da görülmektedir (Goncu vd., 2017, Al ve Yıldız, 2018, Aktaş vd., 2023).

Tablo 64. Kefir Örneklerine Ait pH Değerlerinin Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Kefir Çeşidi	n	pH*
K ₁	8	4,51±0,08 ^b
K ₂	8	4,30±0,04 ^c
C	8	4,66±0,13 ^a

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; ±: Standart sapma

Kefir örneklerin depolama süresi boyunca pH değerleri ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 65’de verilmiştir. Tablo incelendiğinde, kefir örneklerinin pH değerleri ortalamalarının depolama boyunca sürekli azalış eğiliminde olduğu görülmüştür (p<0,05). Elde edilen sonuçlara göre, kefir örneklerinin en yüksek ortalama pH değerleri depolamanın 1. gününde (4,57), en düşük ise 21. günde bulunmuştur (4,40). Literatüre bakıldığında benzer sonuçların elde edildiği görülmektedir. %5 oranında kefir danesiyle mayalanan kefirlerin 1. gün pH değeri 4.4 olurken 21. gün sonunda 4.5 olduğu tespit edilmiştir (Irigoyen vd., 2005). Kök-Taş vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, 1. gün ve 21. gün pH değerleri sırasıyla 4,49 ve 4,35 olarak bulunmuştur. Aktaş vd. (2023) yapılan çalışmada ise inek sütünden yapılan konsantre kefirin 1. gün pH değeri 4,56 olarak bulunurken, 21. günde 4,52 olduğu rapor edilmiştir. Magra vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, %7 kefir danesi ve %3,5 yağ içeren süt ile fermentasyon gerçekleştirilmiş ve 14 günlük depolama sonunda başlangıçta pH değeri 3,87 iken 14. günde 3,72’ye düştüğü görülmüştür.

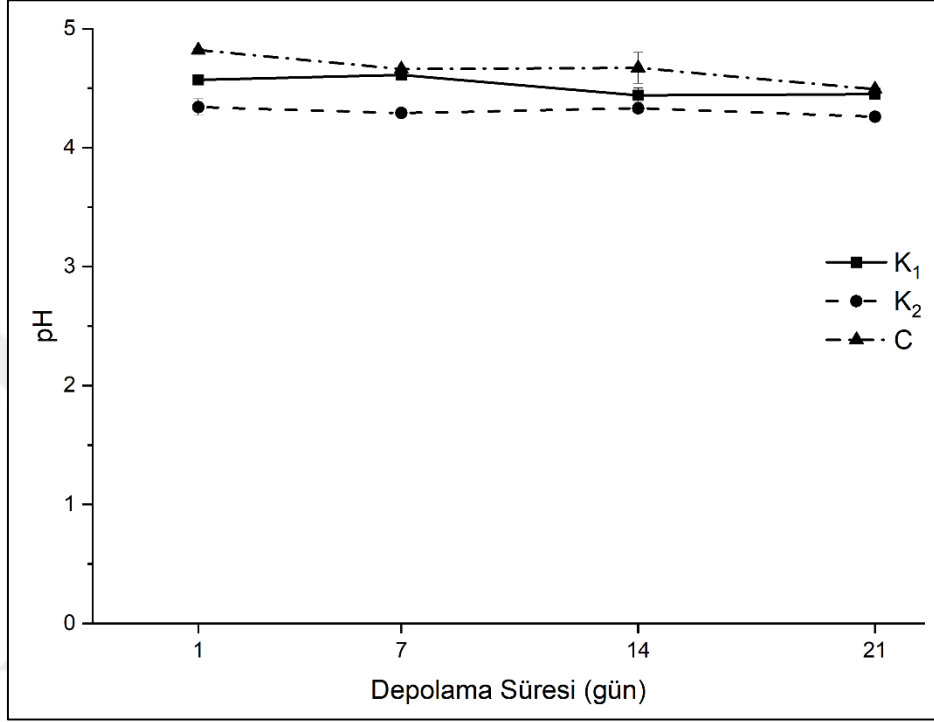
Tablo 65. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca pH Değerlerinin Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama süresi (gün)	n	pH*
1	6	4,57±0,22 ^a
7	6	4,52±0,18 ^{ab}
14	6	4,48±0,17 ^b
21	6	4,40±0,11 ^c

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; ±: Standart sapma

Kefir örneklerinin pH değerleri üzerine kefir çeşidi × depolama interaksiyonunun istatistiksel olarak etkili olduğu belirlenmiştir (p<0,05). Kefir örneklerinin depolama süresince

pH değerleri Şekil 36’da verilmiştir. Şekil incelendiğinde kontrol kefir örneğinin pH değerlerinin depolama süresince en yüksek, K₂ kefir örneğinin ise en düşük pH değerine sahip olduğu açıkça görülmektedir. Ayrıca kefir örneklerinin depolama süresince pH değerlerinde bazı küçük dalgalanmaların olduğu, pH değerlerinin sürekli olarak azalmadığı da belirlenmiştir. Gün (2022) tarafından da benzer sonuç elde edilmiş olup, kefirin 1., 7., 15., ve 21. gündeki pH değeri sırasıyla 4,45, 4,47, 4,43 ve 4,44 olduğu bulunmuştur.



Şekil 36. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca pH değerleri (K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)

Kefir örneklerine ait % asitlik değerleri ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 66’da verilmiştir. Kefir çeşidinin % asitlik değerleri üzerinde çok önemli derecede farklılığa neden olduğu görülmüştür ($p < 0,01$). Çalışmada titre edilebilir asitlik değerlerinin artış eğilimi gösterdiği bulunmuştur. Kefir örneklerinin depolama süresince % asitlik değerinin ortalamasının en yüksek K₂ kefir örneğinde (%0,83), en düşük % asitlik değerinin kontrol kefir örneğinde (%0,74) olduğu belirlenmiştir. Ek olarak, K₁, K₂ ve kontrol örneklerinin % asitlik değerlerinin ortalamalarının istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde farklı olduğu görülmüştür. Kefir üretimindeki farklılıklar nedeniyle % asitlik değerlerinin depolama süresince incelendiği ve farklı % asitlik değerlerine sahip olduğu çalışmalar vardır (Goncu vd., 2017, İrkin ve Berkkaçan, 2022).

Tablo 66. Kefir Örneklerine Ait Asitlik Değerlerinin Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Kefir Çeşidi	n	Asitlik (%) [*]
K ₁	8	0,78±0,02 ^b
K ₂	8	0,83±0,02 ^a
C	8	0,74±0,03 ^c

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; ±: Standart sapma

Kefir örneklerinin depolama süresince asitlik değerlerinin ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 67’de gösterilmiştir. Örneklerin % asitlik ortalamaları üzerine depolamanın etkili olmadığı belirlenmiştir (p>0,05). En düşük % asitlik ortalaması depolamanın 1. gününde %0,76 olduğu, en yüksek % asitlik ortalamasının ise 14. günde %0,80 olduğu bulunmuştur. Depolamanın 7. ve 21. gününde ise aynı miktarda % asitlik ortalaması bulunmuş olup bu değer %0,78’dir. Depolamanın 21. günü dışında örneklerin % asitlik değerleri artış göstermiştir. Grønnevik vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada, depolama sırasında laktik asit düzeyinde önemli bir değişim olmadığı belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada, elma ve limon liflerinden kefirler yapılmış, kontrol örneğinin asitlik değerinin 1. günde %0,68 olduğu 20. günde %0,87 olduğu belirlenmiştir (Goncu vd., 2017). Tomar vd. (2020) inek sütünden yapılan kefirlerin 1. gün %0,73, 7. gün %0,77, 14. ve 21. gün %0,80 olduğunu bildirmektedir.

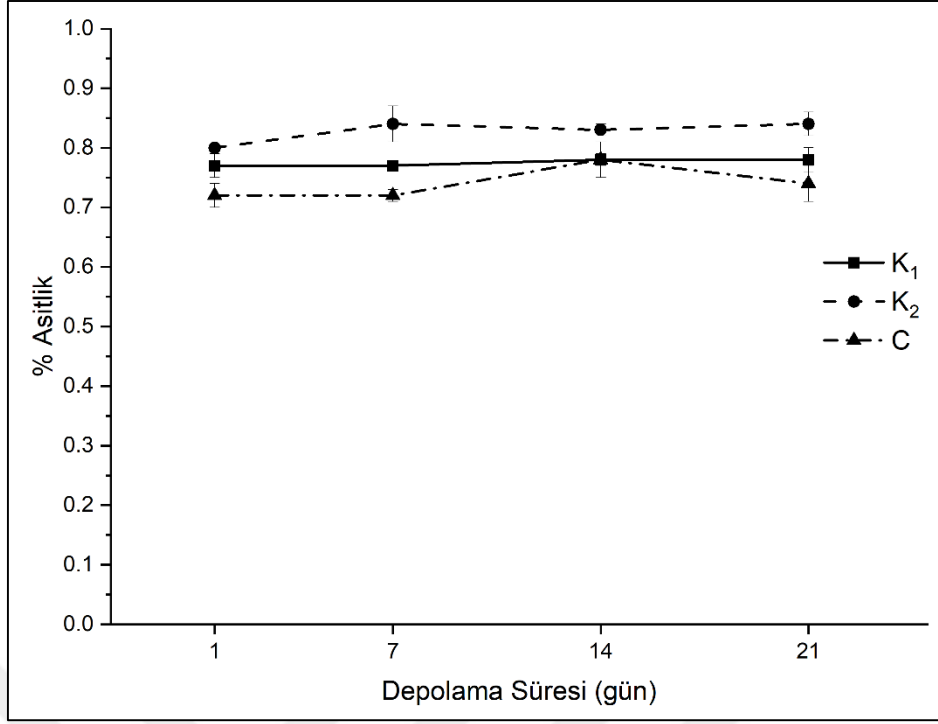
Tablo 67. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Asitlik Değerlerinin Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama süresi (gün)	n	Asitlik (%) [*]
1	6	0,76±0,04 ^b
7	6	0,78±0,06 ^{ab}
14	6	0,80±0,03 ^a
21	6	0,78±0,05 ^{ab}

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; $\pm$: Standart sapma

Kefir örneklerinin % asitlik içerikleri üzerine kefir çeşidi $\times$ depolama interaksiyonunun istatistiksel olarak etkili olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Kefir örneklerinin depolama süresince % asitlik değerleri Şekil 37’de gösterilmiştir. Buna göre, K₂ kefir örneğinin % asitlik değerlerinin depolama süresince en yüksek, kontrol kefir örneğinin % asitlik değerlerinin ise en düşük olduğu görülmektedir. Kontrol kefir örneğinin 21. günü dışındaki tüm diğer günlerde % asitlik değerleri artış göstermiştir. Gün (2022) tarafından yapılan çalışmada ise inek sütünden yapılan kefirin titre edilebilir laktik asit değerinin 1. gün %0,70, 7. gün %0,72, 15. gün %0,74 ve 21. gün %0,77 olduğu bulunmuştur. Kök-Taş vd. (2013) yapmış olduğu çalışmada, 1. ve 21. gün laktik asit değerini sırasıyla %0,81 ve %0,92 olarak bulmuş olup, bu değerler bu çalışmada elde edilen % asitlik değerinden yüksektir.

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği ve Codex Alimentarius Standard’ına göre kefirde asitlik laktik asit cinsinden en az %0,6 içermesi gerekmektedir (Anonim, 2022a, Anonim, 2022b). Üretilen kefirlerin en düşük % asitlik değeri %0,72 olduğu için iki standarda da uygun olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 37. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca % asitlik değerleri (K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)

Kefir örneklerine ait su tutma kapasitesi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 68’de verilmiştir. Üretilen kefir örneklerinin su tutma kapasitesi ortalamaları üzerine kefir çeşidinin $p < 0,01$ düzeyinde etkili olduğu görülmüştür. Kefir örneklerinin depolama süresince su tutma kapasitesi değerinin ortalaması %48,69-52,71 arasında değişip en yüksek su tutma kapasitesi değerinin K₂ kefir örneğinde (%52,71), en düşük su tutma kapasitesi değerinin K₁ kefir örneğinde (%48,69) olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, K₁ ve kontrol örneklerinin su tutma kapasitesi ortalamalarının istatistiksel olarak $p > 0,05$ düzeyinde farklı olmadığı görülmüştür. Kefir çeşidinin farklılığı nedeniyle su tutma kapasitesi değerlerinin incelendiği birçok çalışma vardır (Guzeler vd., 2019, Setyawardani vd., 2020, Wang vd., 2022).

Tablo 68. Kefir Örneklerine Ait Su Tutma Kapasitesi Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Kefir Çeşidi	n	Su Tutma Kapasitesi (%) [*]
K ₁	8	48,69±6,23 ^b
K ₂	8	52,71±5,43 ^a
C	8	48,74±4,37 ^b

^{*} Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; ±: Standart sapma

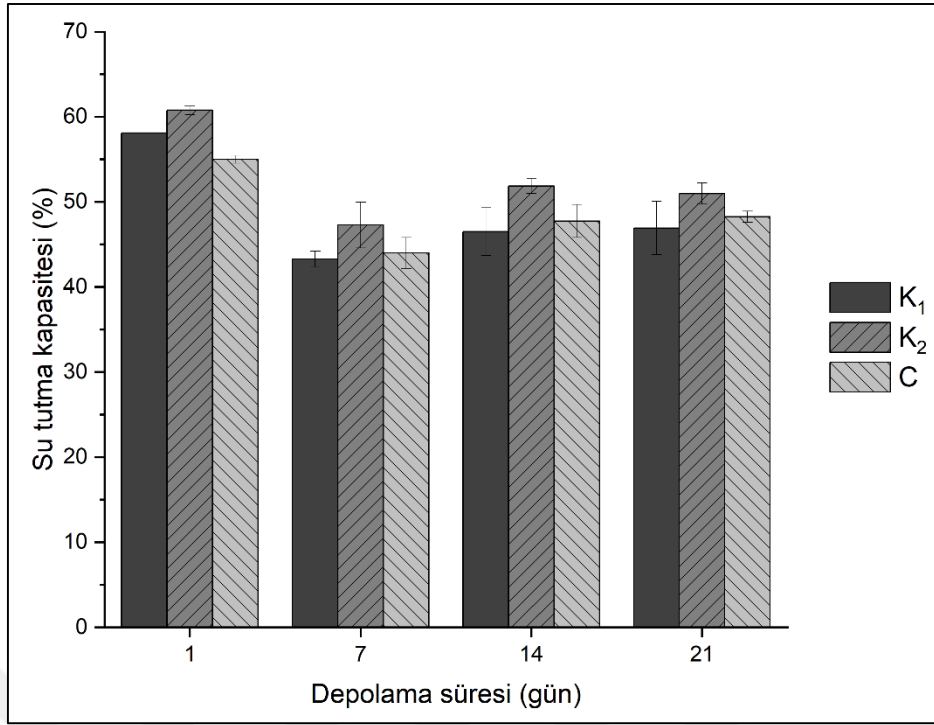
Kefir örneklerinin depolama süresince su tutma kapasiteleri değerlerinin ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 69’da verilmiştir. Çalışmada kefir örneklerinin su tutma kapasiteleri üzerine depolamanın etkili olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$). Sonuçlar incelendiğinde, en düşük su tutma kapasitesi ortalaması depolamanın 7. gününde %44,83 olurken, en yüksek su tutma kapasitesi ortalamasının ise 1. günde %57,95 olduğu bulunmuştur. Depolamanın 14. ve 21. gününde ise hemen hemen aynı miktarda su tutma kapasitesi ortalaması bulunmuş olup bu değerler %48,69 ve %48,71’dir. Kefir örneklerinin su tutma kapasitelerinin sürekli olarak bir artış veya azalış eğiliminde olmadığı, depolama boyunca değişkenlik olduğu tespit edilmiştir. Atalar (2019) tarafından yapılan çalışmada, 21 günlük depolamada buna benzer sonuç bulunmuş olup su tutma kapasitesinin sürekli artış veya azalış eğiliminde olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 69. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Su Tutma Kapasitesi Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama süresi (gün)	n	Su Tutma Kapasitesi (%) [*]
1	6	57,95±2,60 ^a
7	6	44,83±2,44 ^c
14	6	48,69±2,96 ^b
21	6	48,71±2,40 ^b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; ±: Standart sapma

Kefir örneklerinin su tutma kapasitesi üzerine kefir çeşidi × depolama interaksyonunun istatistiksel olarak etkili olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Kefir örneklerinin depolama süresince su tutma kapasitesi değerleri Şekil 38’de gösterilmiştir. Buna göre, K₂ kefir örneğinin su tutma kapasitesi değerlerinin depolama süresince en yüksek olduğu görülmektedir. Kefir örneklerinin su tutma kapasitelerinin %43,25-60,76 arasında değiştiği görülmüştür. Yapılan bir çalışmada, 20 gün depolanan kefir örneklerinin 1. gün ve 20. gün su tutma kapasitelerinin sırasıyla %35,73 ve %38,46 arasında olduğu belirlenmiş olup elde edilen sonuçların bu çalışmadan daha düşük olduğu görülmüştür (Goncu vd., 2017). Akbörü (2019) tarafından yapılan tez çalışmasında farklı kefir örneklerinin 28 gün depolanmasıyla su tutma kapasitesinin %35,35-39,82 arasında değiştiği, su tutma kapasitesindeki bu değişimin nedeni olarak mikroorganizmaların ekzopolisakkarit biyosentezinden kaynaklandığı belirtilmektedir.



Şekil 38. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca su tutma kapasitesi değerleri (K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)

Kefir örneklerine ait serum ayrılması değerleri ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 70’de verilmiştir. Üretilen kefir örneklerinin serum ayrılması değerleri üzerine kefir çeşidinin önemli derecede farklılığa neden olduğu görülmüştür ($p < 0,01$). Kefir örneklerinin depolama süresince serum ayrılma değerinin ortalaması 8,44 mL ile 9,94 mL arasında olup, en yüksek serum ayrılması kontrol kefir örneğinde (9,94 mL), en düşük serum ayrılması değerinin K₂ kefir örneğinde (8,44 mL) olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak, K₁, K₂ ve kontrol örneklerinin serum ayrılması değerlerinin ortalamalarının istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde farklı olduğu görülmüştür. Kefir üretimindeki farklılıklar nedeniyle serum ayrılması değerlerinin incelendiği çalışmalar mevcuttur (Al ve Yıldız, 2018, Akbörü, 2019, Guzeler vd., 2019).

Tablo 70. Kefir Örneklerine Ait Serum Ayrılması Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Kefir Çeşidi	n	Serum Ayrılması (mL)*
K ₁	8	9,19±0,88 ^b
K ₂	8	8,44±1,18 ^c
C	8	9,94±0,42 ^a

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; ±: Standart sapma

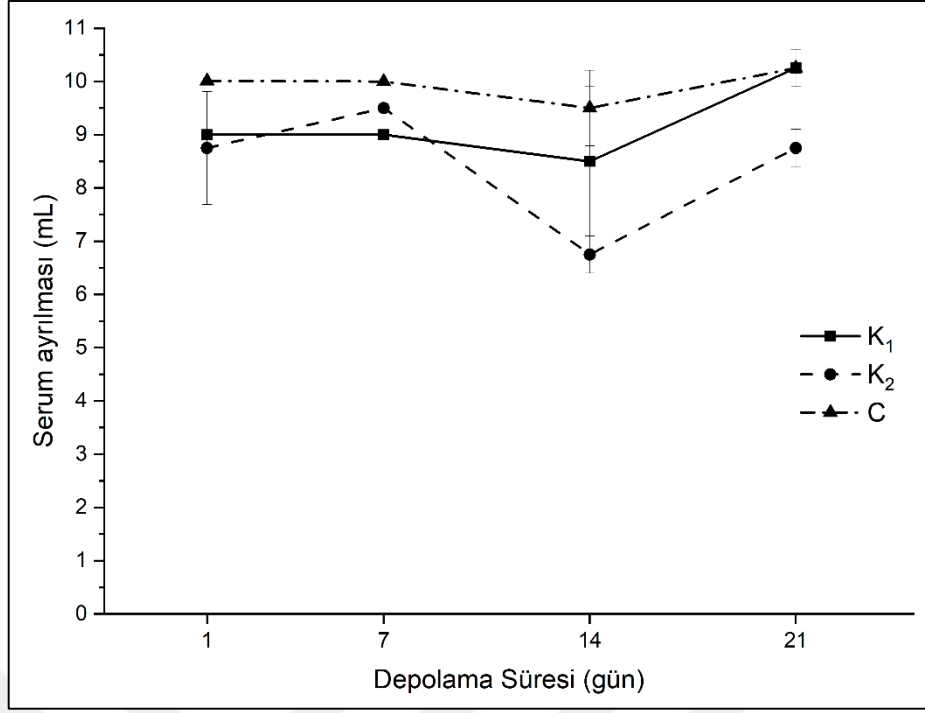
Kefir örneklerinin depolama süresince serum ayrılma değerlerinin ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 71’de gösterilmiştir. Kefir örneklerinin serum ayrılması üzerine depolamanın $p<0,01$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, en düşük serum ayrılması ortalaması depolamanın 14. günde 8,25 mL olurken, en yüksek serum ayrılması ortalamasının ise 21. günde 9,75 mL olduğu bulunmuştur. Depolamanın 1. ve 7. gününde ise sırasıyla 9,25 mL ve 9,50 mL serum ayrılması ortalaması belirlenmiştir. Kefir örneklerinin serum ayrılması değerlerinin sürekli olarak bir artış veya azalış eğiliminde olmadığı, depolama boyunca değişkenlik olduğu tespit edilmiştir. Şen (2015) tarafından yapılan çalışmada, üretilen kefirlerin serum ayrılması değerlerinin depolamayla belli bir artış veya azalış eğiliminde olmadığı bu çalışmada olduğu gibi bulunmuştur.

Tablo 71. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Serum Ayrılması Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama süresi (gün)	n	Serum Ayrılması (mL)*
1	6	9,25±0,76 ^a
7	6	9,50±0,45 ^a
14	6	8,25±1,44 ^b
21	6	9,75±0,82 ^a

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; $\pm$: Standart sapma

Kefir örneklerinin serum ayrılması üzerine kefir çeşidi $\times$ depolama interaksiyonunun istatistiksel olarak etkili olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Kefir örneklerinin depolama süresince serum ayrılma değerleri Şekil 39’da gösterilmiştir. Buna göre, K₂ kefir örneğinin serum ayrılması değerlerinin depolama süresince en düşük olduğu görülmektedir. Kefir örneklerinin serum ayrılma değerleri 6,75-10,25 mL arasında değiştiği belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada ticari kefir starter kültürü kullanılarak yapılan kefirin serum ayrılması değerinin, kefir danesi kullanılarak yapılan kefirlerden daha az olduğu bulunmuştur (Arslan, 2015). Ancak bu çalışmaya bakıldığında ticari kefir starter kültürü kullanılarak üretilen kontrol kefirinin serum ayrılması değerinin daha fazla olduğu görülmüştür.



Şekil 39. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca serum ayrılması değerleri (K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)

Viskozite, ürünün dokusuyla doğrudan ilgili olan ve tüketicinin tercihinine etki eden bir parametredir (İrkin ve Berkkaçan, 2022). Üretilen kefirlerde kullanılan bakterilerin ve mayaların etkisinin ve depolamanın kefir örneklerinin viskoziteleri üzerine etkisi de incelenmiştir. Bu amaçla kefir örneklerinin 20 rpm ve 50 rpm’de viskozite değerleri tespit edilmiş ve sonuçlar Tablo 72’de verilmiştir. Tablo incelendiğinde, kefir örneklerinin 20 ve 50 rpm’de viskozite değerleri sırasıyla 1206,43-3418,10 cP ve 672,57-1687,62 cP aralığında değiştiği belirlenmiştir. 20 rpm ve 50 rpm’deki en düşük viskozite değerine kontrol kefir örneğinin, en yüksek viskozite değerine ise K₂ kefir örneğinin sahip olduğu belirlenmiştir. Gün (2022) tarafından yapılan çalışmada, kefir örneğinin viskozite sonuçlarının depolamayla arttığı bulunmuştur

Tablo 72. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Viskozite Değerleri

Örnek	Depolama süresi (gün)	Viskozite Değerleri (cP) (Ort±Ss)	
		20 rpm	50 rpm
K ₁	1	1532,86±46,25	828,29±16,82
	7	2480,60±154,36	1267,33±30,03
	14	2203,45±89,28	1148,95±22,88
	21	2059,52±46,17	1094,71±11,89
K ₂	1	2223,93±48,53	1215,29±18,85
	7	3212,74±63,33	1687,62±41,16
	14	2570,00±76,40	1378,76±24,66
	21	3418,10±82,11	1779,90±39,36
C	1	1286,67±35,11	672,57±8,57
	7	1934,76±68,62	1042,05±27,72
	14	1206,43±53,44	675,19±12,04
	21	2096,43±127,03	1116,71±37,43

K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; Ort: Ortalama değer; Ss: Standart sapma

Varyans analizi yapılarak çalışmada üretilen kefirlerin depolama süresi boyunca viskozite değerlerinin istatistiksel farkı ortaya koyulmuş ve Tablo 73’de sonuçlar verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına bakıldığında, viskozite değerleri üzerine kefir çeşidi, depolama ve kefir çeşidi × depolama interaksiyonunun hem 20 rpm’de hem 50 rpm’de $p<0,01$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Ak (2018) tarafından yapılan çalışmada da depolama süresinin $p<0,001$ düzeyinde etkili olduğu belirlenmiştir.

Tablo 73. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Viskozite Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	20 rpm		50 rpm	
		KO	F	KO	F
Kefir Çeşidi (A)	2	64735864,63	12836,080**	17829050,41	36648,303**
Depolama (B)	3	22423848,46	4446,29**	5548528,88	11405,22**
A × B	6	2836854,71	562,50**	578131,98	1188,37**
Hata	480	5043,27		486,49	
Genel	504				

* önemli ($p<0,05$), ** çok önemli ($p<0,01$), SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

Kefir örneklerine ait 20 rpm ve 50 rpm'deki viskozite değerlerinin ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 74'de verilmiştir. Buna göre, hem 20 hem de 50 rpm'de en yüksek viskozite değeri sırasıyla 2856,19 cP ve 1515,39 cP olmak üzere K₂ kefir örneğinde belirlenmiştir ($p<0,05$). 20 rpm'de ve 50 rpm'de en düşük viskozite değerine sahip kefir örneğinin, kontrol kefir örneği olduğu bulunmuştur. Aktaş vd. (2023) yapmış olduğu çalışmada, 50 rpm'de inek sütüne kıyasla buffalo sütünün daha yüksek viskoziteye sahip olduğunu, en düşük viskoziteye ise keçi sütünden yapılan kefir örneğinin sahip olduğu bulunmuştur. Bu durum kullanılan süt çeşidinin viskoziteyi etkilediğini göstermektedir.

Tablo 74. Kefir Örneklerine Ait Viskozite Değerlerinin Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Kefir Çeşidi	n	20 rpm*	50 rpm*
K ₁	168	2069,11±358,22 ^b	1084,82±162,61 ^b
K ₂	168	2856,19±487,00 ^a	1515,39±231,16 ^a
C	168	1631,16±398,60 ^c	876,63±206,50 ^c

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; ±: Standart sapma

Kefir örneklerinin depolama boyunca viskozite değerlerinin Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 75'de verilmiştir. Tablo incelendiğinde, 20 rpm ve 50 rpm için, en düşük viskozite değeri depolamanın 1. gününde (sırasıyla 1681,15 cP ve 905,38 cP) olduğu tespit edilmiştir. 20 rpm ve 50 rpm'deki en yüksek viskozite değerleri depolamanın 7. gününde sırasıyla 2542,70 cP ve 1332,33 cP olarak rapor edilmiştir. Kefir örneklerinin viskozite değerlerinin sürekli olarak bir artış veya azalış eğiliminde olmadığı, depolama boyunca

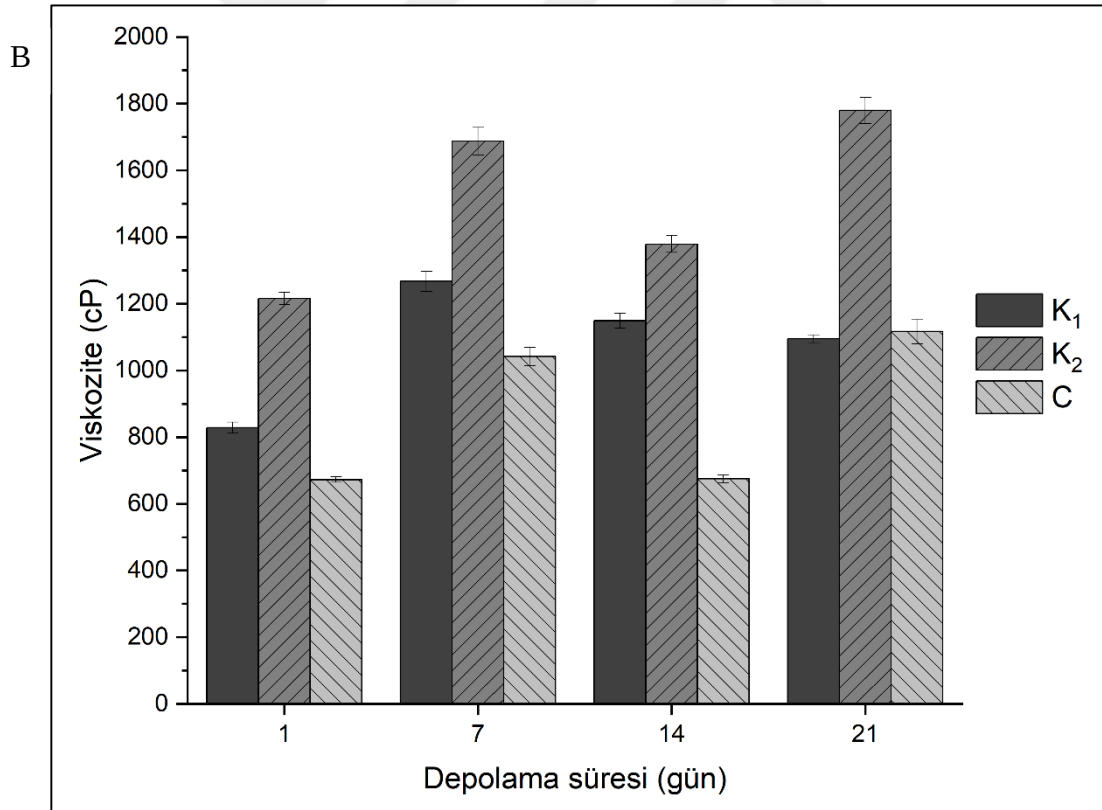
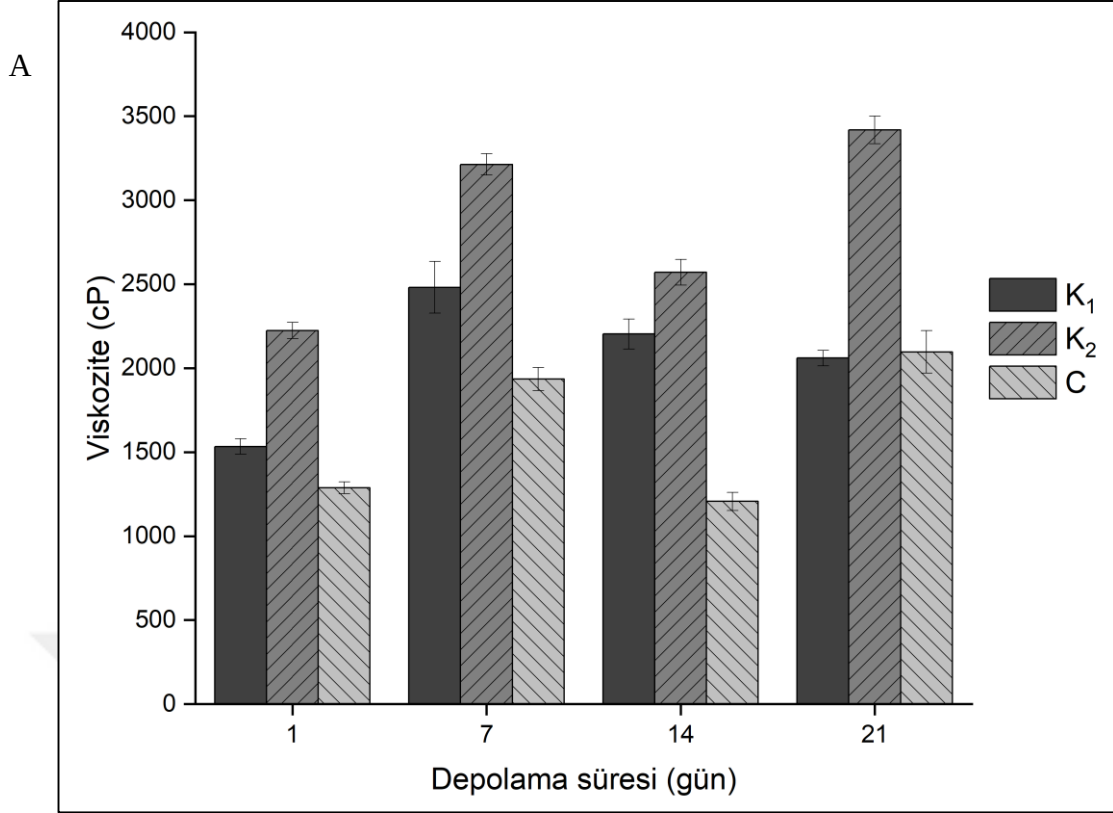
değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuç, geçmişte yapılan çalışmalara benzerlik göstermektedir (Koca, 2016, Goncu vd., 2017, Atalar, 2019, Aktaş vd., 2023). Kök-Taş vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, kefir örneği 21 günlük depolanmış ve depolamayla viskozite değerinin düştüğü belirlenmiştir.

Tablo 75. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Viskozite Değerlerinin Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama süresi (gün)	n	20 rpm*	50 rpm*
1	126	1681,15 ±400,68 ^c	905,38±229,59 ^c
7	126	2542,70±575,72 ^a	1332,33±270,65 ^a
14	126	1993,41±583,01 ^b	1067,63±294,81 ^b
21	126	2524,68±640,87 ^a	1330,44±320,80 ^a

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; ±: Standart sapma

Kefir örneklerinin viskozite değeri üzerine kefir çeşidi × depolama interaksiyonunun istatistiksel olarak p<0,01 düzeyinde etkili olduğu belirlenmiştir. Kefir örneklerinin depolama süresince viskozite değerleri hem 20 rpm hem de 50 rpm için Şekil 40'da gösterilmiştir. Buna göre, K₂ kefir örneğinin viskozite değerlerinin depolama süresince en yüksek olduğu görülmektedir. K₂ kefir örneğinin viskozite değerleri 20 rpm de 2223,93-3418,10 cP, 50 rpm'de 1215,29-1779,90 cP arasında değiştiği görülmüştür.



Şekil 40. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca 20 rpm (A) ve 50 rpm (B)'de viskozite değerleri (K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)

Çalışmada üretilen kefir örneklerinin kıvam katsayıları (K), akış davranış indeksleri (n) ve regresyon katsayı değerleri Power Law Modeli kullanılarak tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 76’da gösterilmiştir. Tabloya göre, tüm kefir örneklerinin akış davranış indeksi (n) 0,147 ile 0,375 arasında değişip, 0 ile 1 değeri arasına sahip olduğu için Newtonyen olmayan psödoplastik akış davranışı göstermişlerdir. Yapılan bazı çalışmalarda da kefirin psödoplastik akış davranış gösterdiği bildirilmektedir (Atalar, 2019, Aktaş vd., 2023). Ayrıca, tüm kefir örneklerinin kıvam katsayıları depolama boyunca 8002,23- 44295,40 Pa.sⁿ aralığında olup en düşük kıvam katsayısına kontrol kefir örneği, en yüksek kıvam katsayısına K₂ örneğinin sahip olduğu belirlenmiştir. Aktaş vd. (2023) yapmış olduğu çalışmada, inek sütünden yapılan sürülebilir kefirin kıvam kat sayısının 1. gün 298,56 Pa.sⁿ ve 14. gün 310,66 Pa.sⁿ olduğu tespit edilmiş olup, elde edilen değerlerin bu çalışmadan elde edilen kıvam katsayısı değerlerinden düşük olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada ayrıca, kefir örneklerinin Regresyon katsayısının (R²) ise 0,993 ile 0,999 arasında değiştiği bulunmuş olup, elde edilen bu sonuçlar Aktaş vd. (2023) tarafından yapılmış olan çalışmadaki değerlerden yüksektir.

Tablo 76. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Kıvam Katsayıları, Akış Davranış İndeksleri ve Regresyon Katsayısı (R²)

Örnek	Depolama süresi (gün)	Kıvam Katsayısı (K, Pa.s ⁿ) (Ort±Ss)	Akış Davranış İndeksi (n) (Ort±Ss)	R ² (Ort±Ss)
K ₁	1	13510,33±1297,24	0,285±0,03	0,999±0,001
	7	17881,28±1243,16	0,321±0,01	0,995±0,004
	14	18061,66±1820,68	0,293±0,03	0,996±0,005
	21	15133,60±2954,84	0,331±0,05	0,993±0,006
K ₂	1	20427,34±465,07	0,281±0,00	0,996±0,002
	7	31789,97±1280,95	0,234±0,01	0,997±0,001
	14	20216,22±257,30	0,314±0,00	0,999±0,000
	21	44295,40±1033,52	0,147±0,01	0,994±0,001
C	1	9365,48±255,59	0,328±0,01	0,999±0,000
	7	17317,43±708,80	0,283±0,01	0,998±0,001
	14	8002,23±1218,05	0,375±0,04	0,998±0,000
	21	23237,81±279,33	0,227±0,00	0,997±0,002

K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; Ort: Ortalama değer; Ss: Standart sapma

Tablo 77’de kefir örneklerinin depolama boyunca kıvam katsayısı değerlerine ait varyans analiz sonuçları verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına bakıldığında, kıvam katsayısı değerleri üzerine kefir çeşidi, depolama ve kefir çeşidi $\times$ depolama interaksiyonunun $p<0,01$ düzeyinde etkili olduğu bulunmuştur.

Tablo 77. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Kıvam Katsayısı Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Kıvam Katsayısı	
		KO	F
Kefir Çeşidi (A)	2	518445246,81	305,04 ^{**}
Depolama (B)	3	228777987,20	134,607 ^{**}
A $\times$ B	6	72200447,42	42,481 ^{**}
Hata	12	1699593,23	
Genel	24		

* önemli ($p<0,05$), ** çok önemli ($p<0,01$), SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

Çalışmada üretilen kefir örneklerine ait kıvam katsayı değerleri ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 78’de gösterilmiştir. Kefir örneklerinin depolama süresince kıvam katsayı değerinin ortalaması 14480,74 Pa.sⁿ ile 29182,23 Pa.sⁿ arasında olup, en düşük kıvam katsayı kontrol kefir örneğinde, en yüksek kıvam katsayı değerinin K₂ kefir örneğinde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, K₁, K₂ ve kontrol örneklerinin kıvam katsayı değerlerinin ortalamalarının istatistiksel olarak $p<0,05$ düzeyinde farklı olduğu görülmüştür.

Tablo 78. Kefir Örneklerine Ait Kıvam Katsayısı Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Kefir Çeşidi	n	Kıvam Katsayısı (K, Pa.s ⁿ) [*]
K ₁	8	16146,72 $\pm$ 2523,59 ^b
K ₂	8	29182,23 $\pm$ 10606,49 ^a
C	8	14480,74 $\pm$ 6631,49 ^c

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; $\pm$: Standart sapma

Kefir örneklerinin depolama süresince kıvam katsayı değerlerinin ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 79’da gösterilmiştir. Kefir örneklerinin kıvam katsayı üzerine depolamanın $p<0,01$ düzeyinde etkili olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar

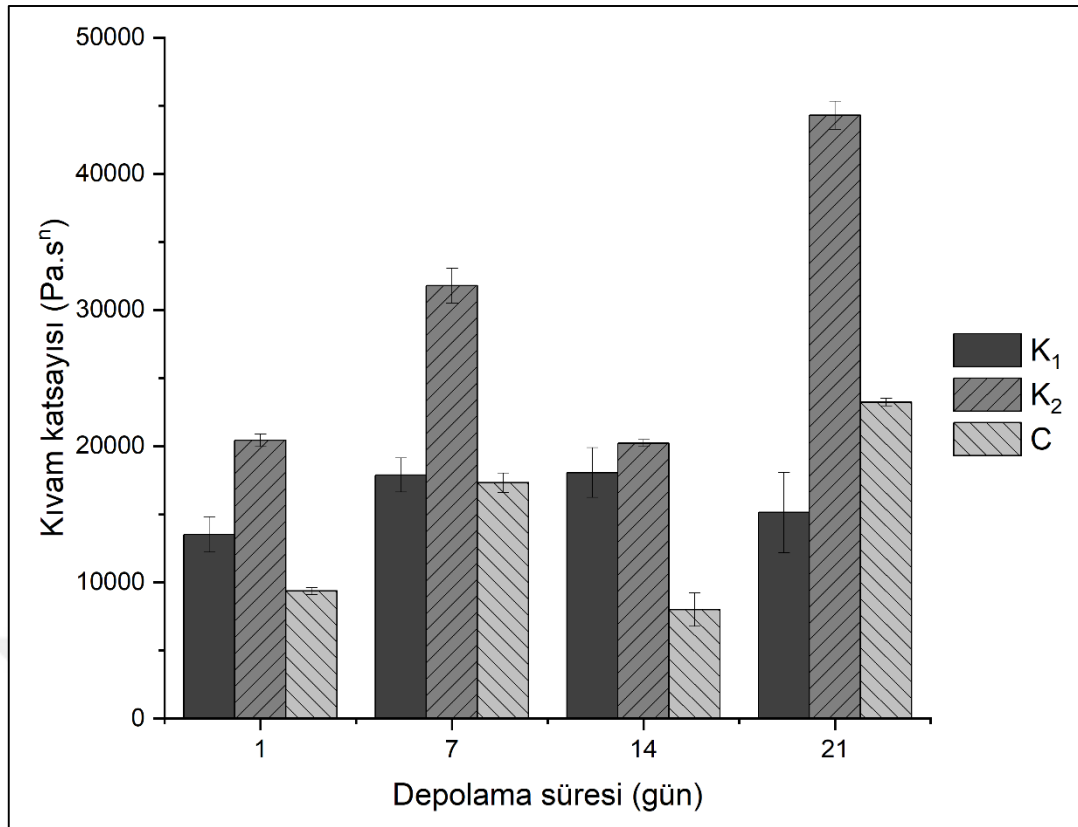
incelendiğinde, en düşük kıvam katsayı ortalaması depolamanın 1. gününde 14434,39 Pa.sⁿ olurken, en yüksek kıvam katsayı ortalamasının 21. günde 27555,60 Pa.sⁿ olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 7. ve 14. gününde ise sırasıyla 22329,56 Pa.sⁿ ve 15426,71 Pa.sⁿ kıvam katsayı ortalaması bulunmuştur. Kefir örneklerinin kıvam katsayı değerlerinin sürekli olarak bir artış veya azalış eğiliminde olmadığı, depolama boyunca değişkenlik olduğu tespit edilmiştir. Bu sonucun yapılan bazı çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir (Atalar, 2019, Aktaş vd., 2023). Yapılan bir çalışmada, %3,5 yağ içeren sütte %3 ve %7 kefir danesi ile fermente edilen kefirin 0-14 gün arası depolamayla kıvam katsayı değerlerinin düştüğü görülmüştür (Magra vd., 2012). Akış davranış indeksi (n) ise 0,681 ile 0,929 arasında değişip bu çalışmada elde edilen sonuçlardan yüksektir.

Tablo 79. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Kıvam Katsayısı Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama süresi (gün)	n	Kıvam Katsayısı (K, Pa.s ⁿ) *
1	6	14434,39±7382,47 ^c
7	6	22329,56±7382,47 ^b
14	6	15426,71±5913,97 ^c
21	6	27555,60±13536,75 ^a

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; ±: Standart sapma

Kefir örneklerinin kıvam katsayısı değerleri üzerine kefir çeşidi × depolama interaksiyonunun istatistiksel olarak p<0,01 düzeyinde etkili olduğu belirlenmiştir. Kefir örneklerinin depolama süresince kıvam katsayısı değerleri Şekil 41’de gösterilmiştir. Buna göre, K₂ kefir örneğinin kıvam katsayısı değerlerinin depolama süresince en yüksek olduğu görülmektedir. K₂ kefir örneğinin kıvam katsayısı değerlerinin 20216,22 Pa.sⁿ ile 44295,40 Pa.sⁿ arasında değiştiği görülmüştür.



Şekil 41. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca kıvam katsayı değerleri (K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği)

Kefir örneklerinin pH ile % asitlik değerleri, kıvam katsayısı, lezzet, ağızda bıraktığı his, kremamsı/sütlü koku, renk ve görünüş, serum ayrılması (duyusal analiz) ve genel kabul edilebilirlik arasında güçlü düzeyde negatif yönde (sırasıyla $r=-,778$; $-,756$; $-,614$; $-,645$; $-,673$; $-,646$; $-,566$ ve $-,625$ $p<0,01$), serum ayrılması ile orta düzeyde pozitif yönde ($r=,455$ $p<0,05$) bir korelasyonun olduğu tespit edilmiştir. pH ve asitlik arasındaki ters ilişkinin bilinmesi sebebiyle, bu sonuçların beklendiği gibi olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca kefir örneklerinin, % asitlik değerleri ile su tutma kapasitesi arasında orta düzeyde negatif yönde ($r=-,503$ $p<0,05$), kıvam katsayısı, ağızda bıraktığı his, kremamsı/sütlü koku ve kabul edilebilirlik arasında orta düzeyde pozitif yönde (sırasıyla $r=,591$; $,600$; $,554$ ve $,530$; $p<0,01$), lezzet ile orta düzeyde pozitif yönde ($r=,435$ $p<0,05$) ilişki olduğu belirlenmiştir. Kefir örneklerinin su tutma kapasitesi ile renk ve görünüş ve serum ayrılması (duyusal analiz) arasında orta düzeyde negatif yönde (sırasıyla $r=-,407$ ve $-,504$ $p<0,05$), asitlik/ekşilik tat ile orta düzeyde pozitif yönde ($r=,563$ $p<0,01$) bir korelasyon belirlenmiştir. Kefir örneklerinin serum ayrılması ile asitlik/ekşilik tat, lezzet, ağızda bıraktığı his, asitlik/ekşilik koku arasında orta düzeyde negatif yönde (sırasıyla $r=-,444$; $-,438$; $-,463$ ve $-,425$ $p<0,05$) ilişki bulunmuştur. Kefir örneklerinin farklı hızlarda (20 rpm ve 50 rpm) belirlenen vizkozite değerleri arasında çok güçlü düzeyde pozitif yönde ($r=,989$ $p<0,01$) bir korelasyon tespit edilmiştir (EK-2).

Duyusal analiz

Gıdaların duysal özellikleri, ürünün tercih edilmesinde en önemli kalite kontrol kriterlerinden birisidir (Yildiz-Akgul vd., 2018). Bakteri ve mayalardan oluşan kefir, sadece bakterilerden oluşan kefir ve kontrol kefir örneklerinin depolama süresince duysal analizleri gerçekleştirilmiştir. Duyusal analiz; tat, koku, yapı ve tekstür ve genel kabul edilebilirlikten oluşan 4 ana başlık altında yapılmıştır. Tat başlığı altında kefirler; kremamsı/sütlü, asitlik/ekşilik, lezzet ve ağızda bıraktığı his özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Koku başlığı altında kefirler; kremamsı/sütlü ve asitlik/ekşilik özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Yapı ve tekstür olarak; renk ve görünüş, viskozite, serum ayrılması ve köpürme özellikleri açısından değerlendirilmiştir. En son olarak da genel kabul edilebilirlik açısından değerlendirilmiştir. Tablo 81’de depolama süresince gerçekleşen duysal analiz sonuçları verilmiştir. Panelistler tarafından beğenilen kefir örneklerinin belirlenmesi için duysal analiz özelliklerine verilen tüm puanların ortalamaları alınmıştır. Kefirlerin genel kabul edilebilirlik sonuçlarına bakıldığında, K₂ kefir örneğinin depolanma süresince (21. gün dışında) daha çok beğenildiği görülmektedir. Kontrol kefir örneği ise genel kabul edilebilirlik açısından panelistlerden depolama süresince düşük puan almıştır. Bu durumda, çalışma kapsamında üretilen kefirlerin kontrol kefir örneğinden daha fazla beğenildiği tespit edilmiştir.

Tablo 80. Kefir Örneklerinin Depolama Süresince Gerçekleştirilen Duyusal Analiz Sonuçları

Kefir Çeşidi	Depolama Süresi (gün)	Duyusal Analiz Özellikleri										
		Tat				Koku		Yapı ve tekstür				Genel Kabul Edilebilirlik
		Kremamsı/Sütlü	Asitlik/Ekşilik	Lezzet	Ağızda bıraktığı his	Kremamsı/Sütlü	Asitlik/Ekşilik	Renk ve Görünüş	Viskozite	Serum ayrılması	Köpürme	
K ₁	1	6,27±1,84	7,06±1,09	6,65±1,82	6,60±1,82	7,13±1,65	7,63±0,92	7,58±1,59	6,88±1,83	8,02±1,60	7,71±1,68	6,94±1,70
	7	6,63±2,08	7,42±1,06	6,75±1,54	6,71±1,81	6,67±1,93	7,50±1,06	7,79±1,10	6,63±1,97	8,29±0,90	7,08±1,86	7,02±1,36
	14	6,54±2,02	7,04±0,86	6,46±1,61	6,38±1,66	6,68±1,90	7,29±1,30	7,54±1,25	6,50±1,74	8,13±0,74	7,50±1,02	7,07±1,16
	21	6,67±1,31	6,67±1,20	6,38±1,21	6,08±1,59	6,50±1,50	7,00±0,93	7,79±1,64	5,71±2,01	8,04±1,27	8,08±1,14	6,74±1,10
K ₂	1	6,92±1,32	7,29±1,63	7,46±1,41	7,38±1,21	7,63±1,06	7,69±1,23	7,96±0,86	5,96±2,31	7,88±1,68	7,54±1,47	7,35±1,15
	7	7,04±1,92	6,96±1,46	7,08±1,38	6,88±1,94	6,88±1,68	6,92±1,59	7,79±1,25	6,54±2,17	7,75±1,67	7,63±1,64	7,25±1,22
	14	6,75±2,15	7,25±1,36	7,04±1,55	7,21±1,56	6,92±1,77	7,25±1,45	7,96±0,95	7,42±1,61	8,33±0,64	7,63±1,10	7,35±1,00
	21	6,63±1,76	6,46±2,00	6,63±1,79	6,33±1,71	7,00±1,10	7,21±1,14	7,67±1,79	4,79±2,47	8,25±0,85	8,21±0,78	6,47±1,63
C	1	5,88±1,36	6,54±1,02	6,17±1,74	6,02±1,78	6,48±1,87	7,19±1,33	7,13±1,94	7,50±1,10	8,13±1,42	6,46±1,93	6,17±1,40
	7	6,21±2,21	7,13±0,95	6,54±1,86	6,42±1,95	6,63±1,91	7,33±0,82	7,67±1,58	7,25±1,73	7,96±1,23	6,79±2,30	6,65±2,05
	14	6,54±1,53	6,75±0,99	5,63±1,56	5,88±1,60	6,75±1,48	7,21±1,18	7,42±1,32	7,25±1,42	8,08±0,78	6,96±1,73	6,37±1,43
	21	6,67±1,34	6,58±1,10	5,96±1,57	5,92±1,67	6,63±1,58	7,08±1,25	7,75±1,70	5,79±1,84	7,67±2,12	7,38±1,79	6,42±1,59

K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; Ort: Ortalama değer; Ss: Standart sapm

Kefir örneklerinin depolanma süresince gerçekleştirilen duyu analizi sonuçları üzerine yapılan varyans analiz sonuçları **Hata! Yer işareti başvurusu geçersiz.**'de verilmiştir. Kefir örneklerinin tat ana başlığı içindeki varyans analizleri incelendiğinde, kremamsı/sütlü özellikleri üzerine kefir çeşidinin $p < 0,05$ düzeyinde önemli olduğu, depolama ve kefir çeşidi $\times$ depolama interaksyonunun etkili olmadığı ($p > 0,05$); asitlik/ekşilik özellikleri üzerine kefir çeşidi ve kefir çeşidi $\times$ depolama interaksyonunun etkili olmadığı ($p > 0,05$), depolamanın ise $p < 0,01$ düzeyinde etkili olduğu; lezzet ve ağızda bıraktığı his özellikleri üzerine kefir çeşidi ve depolamanın $p < 0,01$ düzeyinde etkili olduğu, kefir çeşidi $\times$ depolama interaksyonunun ise etkili olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Kefir örneklerinin koku ana başlığı içindeki varyans analizleri incelendiğinde, kremamsı/sütlü özellikleri üzerine kefir çeşidinin $p < 0,01$ düzeyinde önemli olduğu, depolama ve kefir çeşidi $\times$ depolama interaksyonunun etkili olmadığı ($p > 0,05$); asitlik/ekşilik özellikleri üzerine ise kefir çeşidi, depolama ve kefir çeşidi $\times$ depolama interaksyonunun etkili olmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Kefir örneklerinin yapı ve tekstür ana başlığı içindeki varyans analizleri incelendiğinde, renk ve görünüş özellikleri üzerine kefir çeşidinin $p < 0,01$ düzeyinde önemli olduğu, depolama ve kefir çeşidi $\times$ depolama interaksyonunun etkili olmadığı ($p > 0,05$); viskozite özellikleri üzerine kefir çeşidi, depolama ve kefir çeşidi $\times$ depolama interaksyonunun $p < 0,01$ düzeyinde etkili olduğu; renk ve görünüş özellikleri üzerine kefir çeşidi ve depolamanın etkili olmadığı ($p > 0,05$), kefir çeşidi $\times$ depolama interaksyonunun $p < 0,01$ düzeyinde önemli olduğu; köpürme özellikleri üzerine kefir çeşidi ve depolamanın $p < 0,01$ düzeyinde etkili olduğu, kefir çeşidi $\times$ depolama interaksyonunun etkili olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Kefir örneklerinin genel kabul edilebilirlik ana başlığı içindeki varyans analizleri incelendiğinde ise, genel kabul edilebilirlik özellikleri üzerine kefir çeşidinin $p < 0,01$ düzeyinde önemli olduğu, depolamanın $p < 0,05$ düzeyinde etkili olduğu ve kefir çeşidi $\times$ depolama interaksyonunun etkili olmadığı ($p > 0,05$) görülmüştür.

Tablo 81. Kefir Örneklerinin Depolama Süresince Gerçekleştirilen Duyusal Analiz Sonuçlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Tat								Koku			
		Kremamsı/Sütlü		Asitlik/Ekşilik		Lezzet		Ağızda bıraktığı his		Kremamsı/Sütlü		Asitlik/Ekşilik	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Kefir Çeşidi (A)	2	6,339	4,010*	2381	2,615	23,011	22,755**	19,152	16,998**	6,110	4,940**	0,553	0,626
Depolama (B)	3	1,387	0,878	4,663	5,121**	4,429	4,380**	4,939	4,383**	2,149	1,737	2,149	1,737
A × B	6	1,608	1,017	1,411	1,550	1,301	1,286	1,719	1,526	1,418	1,146	1,234	1,396
Hata	144	1,581		0,911		1,011		1,127		1,237		0,884	
Genel	288												

* önemli ($p < 0,05$), ** çok önemli ($p < 0,01$), SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

Tablo 81. Devamı

Varyasyon Kaynakları	SD	Yapı ve Tekstür								Genel Kabul Edilebilirlik	
		Renk ve Görünüş		Viskozite		Serum ayrılması		Köpürme			
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Kefir Çeşidi (A)	2	3,014	5,032**	14,847	9,785**	0,631	1,992	19,858	17,383**	12,856	17,874**
Depolama (B)	3	0,596	0,995	38,920	25,650**	0,607	1,917	7,707	6,747**	2,721	3,782*
A × B	6	1,106	1,847	5,431	3,579**	1,356	4,279**	1,117	0,978	1,553	2,160
Hata	144	0,599		1,517		0,317		1,142		0,719	
Genel	288										

* önemli (p<0,05), ** çok önemli (p<0,01), SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

Kefir örneklerine ait duyu analizi sonuçlarının ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 82’de verilmiştir. Tablo incelendiğinde, kefir çeşidinin serum ayrılması ve koku ana başlığının altındaki asitlik/ekşilik özellikleri dışındaki tüm özellikler üzerine istatistiksel olarak etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışma kapsamında üretilen kefir örneklerinin tat ana başlığı altındaki özellikleri panelistler tarafından değerlendirildiğinde, kremamsı/sütlü, lezzet ve ağızda bıraktığı his özelliklerinin sırasıyla 6,83, 7,05 ve 6,95’lik puanlamayla en çok K₂ kefir örneğinin beğenildiği; asitlik/ekşilik özelliğinin 7,05’lik puanlamayla en çok K₁ kefir örneğinin beğenildiği belirlenmiştir. Panelistler tarafından, kremamsı/sütlü, asitlik/ekşilik, lezzet ve ağızda bıraktığı his özelliklerine en düşük puan sırasıyla 6,32, 6,75, 6,07 ve 6,06 olarak kontrol kefir örneğine verilmiştir.

Üretilen kefir örneklerinin koku ana başlığı altındaki özellikleri panelistler tarafından değerlendirildiğinde, kremamsı/sütlü özelliğinin 7,10’luk puanlamayla en çok K₂ kefir örneğinde beğenildiği, en az ise 7,49 ve 6,90’luk puanlamayla kontrol örneğinde beğenildiği görülmüştür. Asitlik/ekşilik özelliğinin ise 7,35’lik puanlamayla en çok K₁ kefir örneğinde beğenildiği, en az ise 7,20’lik puanlamayla kontrol kefir örneğinde olduğu belirlenmiştir.

Kefir örneklerinin yapı ve tekstür ana başlığı altındaki özellikleri panelistler tarafından değerlendirildiğinde, renk ve görünüş ve köpürme özelliklerinin sırasıyla 7,84 ve 7,75’lik puanlamayla en çok K₂ kefir örneğinde beğenildiği, en az ise 6,62’lik puanlamayla kontrol örneğinde beğenildiği görülmüştür. Viskozite özelliğinin 6,95’lik puanlamayla en çok kontrol kefir örneğinde, en az ise 6,18’lik puanlamayla K₂ kefir örneğinde beğenildiği tespit edilmiştir. Serum ayrılması özelliğinin ise en çok 8,12’lik puanlamayla K₁ kefir örneğinde, en az ise 7,96’lik puanlamayla kontrol kefir örneğinde beğenildiği bulunmuştur.

Kefir örneklerinin genel kabul edilebilirlik özelliği incelendiğinde ise en fazla 7,10’luk puanlamayla K₂ kefir örneği, en az ise 6,40’luk puanlamayla kontrol örneğinin beğenildiği görülmüştür. Muir vd. (1999) ve Wang vd. (2022) tarafından yapılan çalışmalarda da, farklı starter kültür kombinasyonları kullanılarak üretilen kefirlerin duyu özellikleri belirlenmiş ve sonuçlar starter kültür farklılıklarının kefirin bazı duyu analiz özellikleri üzerine istatistiksel olarak etkili olduğunu göstermiştir.

Kefir örneklerine depolama süresince duyu analizi sonuçlarının Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 83’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde depolama süresinin, tat ve koku başlığı altındaki kremamsı/sütlü, renk ve görünüş ve serum ayrılması özellikleri dışındaki tüm özellikler üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışma kapsamında üretilen kefir örneklerinin tat ana başlığı altındaki asitlik/ekşilik ve ağızda bıraktığı his ve yapı tekstür ana başlığı altındaki viskozite değeri depolamanın 1., 7., ve 14. günlerinde

istatistiksel olarak fark göstermemişken ($p>0,05$), 21. günde bu özellikler bakımından kefir örneklerinin aldıkları puanlar istatistiksel olarak azalmıştır ($p<0,05$). Kefir örneklerinin lezzet özelliği panelistler tarafından değerlendirildiğinde, 1. ve 7. günler arasında ve 14. ve 21. günler arasında istatistiksel fark olmadığı ($p>0,05$) görülmüş olup en yüksek değerin 7. günde (6,79), en düşük değerin ise 21. günde (6,32) olduğu tespit edilmiştir.

Kefir örneklerinin koku ana başlığı altındaki asitlik/ekşilik özelliğinin en yüksek 1.günde (7,50), en düşük 21.günde (7,10) olduğu bulunmuştur. Köpürme özelliği panelistler tarafından değerlendirildiğinde, örneklerin 7. günde 7,17 ile en düşük köpürme değerine sahip olduğu görülürken en yüksek köpürme değerinin 7,89 ile 21. günde olduğu tespit edilmiştir.

Genel kabul edilebilirlik özelliği açısından örnekler incelendiğinde en yüksek değerin 7. günde (6,98) en düşük değerin 21. günde (6,54) olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar Yıldız-Akgül vd. (2018) tarafından yapılan çalışmaya benzer olup, duyu analizi puanları depolama süresi arttıkça azalmıştır. Irigoyen vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada depolama süresi uzadıkça genel kabul edilebilirlik özelliğinin azaldığı bulunmuş ve çalışmamızla benzer olduğu görülmüştür.

Depolamayla beraber genel kabul edilebilirliğinin azalmasının nedeni olarak viskozitenin değişimi olabileceği düşünülmektedir. Çünkü depolamayla beraber örneklerin kıvam katsayısı arttığından yani kefir örnekleri daha yoğun kıvam aldığından panelistler tarafından beğenme durumunun azaldığı düşünülmektedir. Bu durum aslında kefirde kullanılacak starter kültürlerin sadece fermentasyon ve üretim aşamasında değil depolama aşamasında da çok önemli olduğunu göstermektedir.

Kefir örneklerinin depolama süresince duyu analizi değerleri Şekil 42’de gösterilmiştir. Şekil incelendiğinde, K₂ kefir örneğinin depolamayla birlikte diğer kefir örneklerine göre daha yüksek duyu kaliteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 82. Kefir Örneklerine Ait Duyusal Analiz Sonuçlarının Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

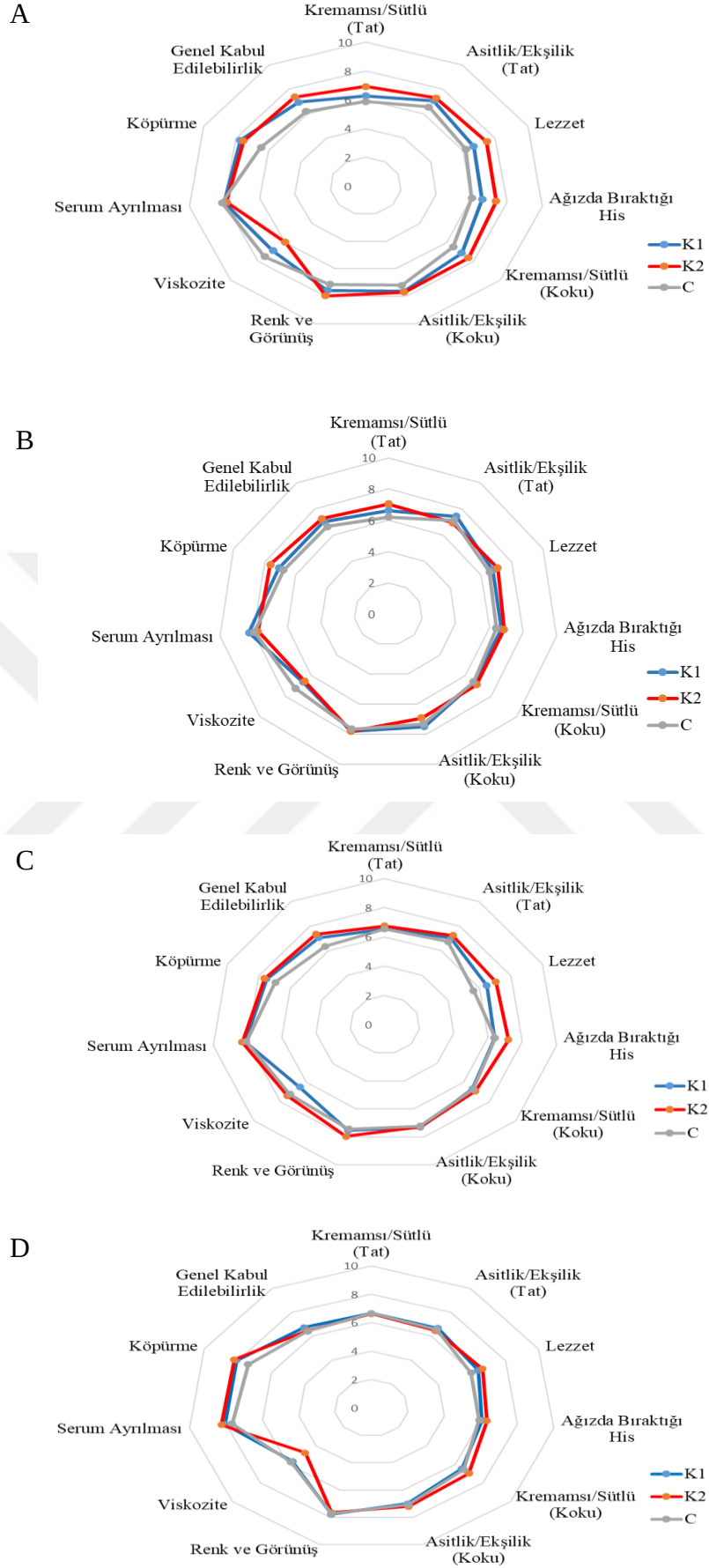
Kefir Çeşidi	n	Tat				Koku		Yapı ve Tekstür				Genel Kabul Edilebilirlik
		Kremamsı/ Sütü	Asitlik/ Ekşilik	Lezzet	Ağızda bıraktığı his	Kremamsı/ Sütü	Asitlik/ Ekşilik	Renk ve Görünüş	Viskozite	Serum ayrılması	Köpürme	
K ₁	96	6,53±1,81 ^{ab}	7,05±1,08 ^a	6,56±1,54 ^b	6,44±1,71 ^b	6,74±1,74 ^b	7,35±1,08 ^a	7,68±1,40 ^{ab}	6,43±1,91 ^b	8,12±1,16 ^a	7,59±1,49 ^a	6,94±1,33 ^a
K ₂	96	6,83±1,79 ^a	6,99±1,64 ^{ab}	7,05±1,54 ^a	6,95±1,65 ^a	7,10±1,45 ^a	7,27±1,37 ^a	7,84±1,25 ^a	6,18±2,34 ^b	8,05±1,30 ^a	7,75±1,30 ^a	7,10±1,31 ^a
C	96	6,32±1,65 ^b	6,75±1,03 ^b	6,07±1,69 ^c	6,06±1,74 ^c	6,62±1,70 ^b	7,20±1,14 ^a	7,49±1,64 ^c	6,95±1,67 ^a	7,96±1,46 ^a	6,90±1,95 ^b	6,40±1,62 ^b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; K₁: Bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir; K₂: Sadece bakterilerden oluşan kefir; C: Kontrol kefir örneği; ±: Standart sapma

Tablo 83. Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Duyusal Analiz Sonuçlarının Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama süresi (gün)	n	Tat				Koku		Yapı ve Tekstür				Genel Kabul Edilebilirlik
		Kremamsı/ Sütü	Asitlik/ Ekşilik	Lezzet	Ağızda bıraktığı his	Kremamsı/ Sütü	Asitlik/ Ekşilik	Renk ve Görünüş	Viskozite	Serum ayrılması	Köpürme	
1	72	6,35±1,56 ^a	6,97±1,30 ^a	6,76±1,73 ^a	6,67±1,70 ^a	7,08±1,61 ^a	7,50±1,18 ^a	7,56±1,54 ^a	6,78±1,90 ^a	8,01±1,55 ^a	7,24±1,77 ^b	6,82±1,50 ^{ab}
7	72	6,63±2,07 ^a	7,17±1,17 ^a	6,79±1,60 ^a	6,67±1,88 ^a	6,72±1,81 ^a	7,25±1,21 ^{ab}	7,75±1,31 ^a	6,81±1,96 ^a	8,00±1,31 ^a	7,17±1,96 ^b	6,98±1,58 ^a
14	72	6,61±1,90 ^a	7,01±1,09 ^a	6,38±1,66 ^b	6,49±1,68 ^a	6,78±1,71 ^a	7,25±1,30 ^{ab}	7,64±1,19 ^a	7,06±1,63 ^a	8,18±0,72 ^a	7,36±1,34 ^b	6,93±1,26 ^a
21	72	6,65±1,46 ^a	6,57±1,47 ^b	6,32±1,55 ^b	6,11±1,64 ^b	6,71±1,41 ^a	7,10±1,10 ^b	7,74±1,69 ^a	5,43±2,14 ^b	7,99±1,51 ^a	7,89±1,34 ^a	6,54±1,45 ^b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır. n: Örnek sayısı; ±: Standart sapma



Şekil 42. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca duyu analizi özellikleri (A: 1. gün, B: 7. gün, C: 14. gün, D: 21. gün)

Çalışma kapsamında üretilen yoğurt örneklerinin duyu özellikleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla Pearson korelasyon analizi yapılmış ve elde edilen sonuçlar Ek-2'de verilmiştir. Kefir örneklerinin kremamsı/sütlü tat ile asitlik/ekşilik tat, asitlik/ekşilik koku, renk ve görünüş ve viskozite arasında zayıf düzeyde pozitif yönde (sırasıyla $r=,314; ,343; ,323$ ve $,219$ $p<0,01$), serum ayrılması arasında çok zayıf düzeyde pozitif yönde ($r=,187$ $p<0,01$), lezzet, ağızda bıraktığı his, kremamsı/sütlü koku ve genel kabul edilebilirlik arasında orta düzeyde pozitif yönde (sırasıyla $r=,462; ,519; ,597$ ve $,431$; $p<0,01$) bir ilişki belirlenmiştir. Kefir örneklerinin asitlik/ekşilik tat ile lezzet, ağızda bıraktığı his, asitlik/ekşilik koku ve genel kabul edilebilirlik arasında orta düzeyde pozitif yönde (sırasıyla $r=,436; ,485; ,465$ ve $,462$; $p<0,01$), kremamsı/sütlü koku, renk ve görünüş ve viskozite arasında zayıf düzeyde pozitif yönde ($r=,219; ,274; ,266$ $p<0,01$) bir ilişki tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar Irigoyen vd. (2005) tarafından bildirilen sonuçlarla uyumlu olup, kefir örneklerinin tat, koku, yapı ve tekstür özelliklerinin panelistlerin değerlendirdiği genel kabul edilebilirliği etkilediği tespit edilmiştir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden elde edilen 30 farklı kefir danesinin mikrobiyotası belirlenerek toplam 501 suş izole edilmiştir. Elde edilen bu izolatların mikroskopik ve makroskopik özellikleri, Gram boyama ve katalaz özellikleri incelenmiş ve bunlardan 463 tanesinin muhtemel kefir bakteri ve mayası olduğu belirlenmiştir. Çalışmada; kefir üretiminde kullanımı amaçlanan bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir (K₁) ve sadece bakterilerden oluşan kefir (K₂) örnekleri için kullanılabilecek starter kültürlerin belirlenebilmesi amacıyla kefir izolatlarının teknolojik ve probiyotik özellikleri araştırılmıştır. İzolatların probiyotik özelliklerinin belirlenebilmesi için; safraya direnç, simüle mide ortamına tolerans, bazı patojenlere karşı antagonistik aktivite, oto-agregasyon ve ko-agregasyon, hidrofobisite, antibiyotik direnci, virülans faktör, hemolitik aktivite, safra tuzlarını hidrolize etme yeteneği ve DNase aktivitesi gibi analizler yapılmıştır. Kefir izolatlarının teknolojik özelliklerinin belirlenebilmesi için ise farklı sıcaklık ve pH'da gelişim, glikozdan gaz oluşumu, ekzopolisakkarit üretim yeteneği ve arjinin hidrolizi analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler sonucunda belirlenen izolatlar ile bakterilerden ve mayalardan oluşan kefir (K₁) ve sadece bakterilerden oluşan kefir (K₂) örneklerinin üretimi yapılmış ve bu kefirlerin 21 günlük depolama süresi boyunca bazı mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri incelenmiştir. Böylece, depolamanın örnekler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Yapılan analizler ile çalışmaya ait sonuç ve öneriler aşağıda sıralanmıştır.

1. Çalışma kapsamında Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden elde edilen 30 farklı kefir danesinden toplam 501 tane izolat elde edilmiştir. İzolatların ön değerlendirilmesi için mikroskopik ve makroskopik özellikleri, Gram boyama ve katalaz özellikleri incelenmiş ve elde edilen sonuçlar neticesiyle 463 izolatın muhtemel kefir bakterisi ve mayası olabileceği düşünülmüştür. Bu 463 izolatın 334 tanesi bakteri izolatı, 129 tanesi maya izolatı olarak bulunmuştur.
2. Danelerden izole edilen bu suşlar moleküler yöntemler kullanılarak tanımlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre çalışmada, *Lactococcus lactis*, *Hafnia paralvei*, *Lentilactobacillus kefir*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus helveticus*, *Lentilactobacillus parabuchneri*, *Lentilactobacillus diolivorans*, *Schleiferilactobacillus harbinensis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Acetobacter cibinongensis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus vestibularis*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter guillouiae*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas brenneri*, *Pseudomonas psychrophila*, *Pseudomonas lundensis*, *Bacillus pumilus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus*

faecium, *Enterococcus durans*, *Citrobacter freundii* ve *Klebsiella oxytoca* bakteri türleri belirlenmiştir. *Kazachstania unispora*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Geotrichum candidum*, *Pichia fermentans*, *Kazachstania turicensis* ve *Candida sake* izolatları da yine bu çalışmada elde edilen mayalardır.

3. 463 kefir izolatının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla safra tuzları ve simüle mide ortamına toleransları belirlenmiştir. Bakteri izolatlarından 153'ünün, maya izolatlarından ise 78 izolatın safra tuzlarına direnç gösterdiği bulunmuştur. Bu izolatlara simüle mide analizi yapılmış olup, 78 bakteri izolatının ve 46 maya izolatının simüle mide ortamına direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak simüle mide ortamını geçen bakterilerin canlı hücre kalma sayıları hesaplanmış, 41 bakteri ve 25 maya izolatu için probiyotik deneylerin devamı yapılmıştır. Böylece kefir üretiminde kullanılabilecek güvenli ve probiyotik starter kültürler belirlenmeye çalışılmıştır.
4. 41 bakteri ve 25 maya izolatına oto-agregasyon ve ko-agregasyon ile hidrofobisite analizleri yapılmış ve her izolatın farklı değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu izolatların bağırsak ortamında etkili bir şekilde lokalize olabilecekleri düşünülmekte ve ayrıca, bağırsak ortamında bulunması muhtemel patojenlerle etkileşime geçerek patojenlerin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerini azaltabilecekleri varsayılmaktadır. Bu bağlamda, bahsi geçen izolatların fonksiyonel özellikleri de artırılmış kefir üretiminde starter kültür olarak kullanılabilecekleri sonucuna varılmıştır.
5. Mide ortamındaki canlı hücre sayısı fazla olan bakteri ve maya izolatlarının hiçbirisinin hemolitik ve DNase aktivitesine sahip olmadığı belirlenmiştir. Böylece bu izolatların kefir üretiminde kullanımının herhangi bir güvenlik sorununa neden olmayacağı düşüncesine varılmıştır.
6. Probiyotik ve güvenli olduğu düşünülen bakteri ve maya izolatlarının 16'sının safra tuzunu hidrolaz aktivitesine sahip olduğu ve böylece bu izolatların kolesterolü asimile edebileceği kanaatine varılmıştır.
7. Bakteri izolatlarının genel olarak streptomisin, kanamisin, gentamisin ve vankomisine antibiyotiklerine dirençli olduğu belirlenmiştir. Laktik asit bakterilerinin bu antibiyotiklere karşı doğal direnç mekanizmalarının olduğu bilinmesinden dolayı beklenen bir sonuç olduğu düşüncesine varılmıştır. Tüm maya izolatları antibiyotiklere karşı direnç göstermiş, böylece bu izolatların

hastalık esnasında kullanılan antibiyotiğe bağılı ishal riskinin azaltılmasına yardımcı olabileceği kanısına varılmıştır.

8. Muhtemel probiyotik bakteri izolatlarının bazılarının en az bir patojene antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu izolatların kefir üretiminde koruyucu kültür olarak kullanılabileceği ve ürünün mikrobiyolojik kalitesinin arttırılabileceği düşüncesine varılmıştır. Ayrıca çalışmada maya izolatlarının antimikrobiyal etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir.
9. Muhtemel probiyotik olduğu düşünülen bazı bakteri izolatlarının virülans genlerden *asa1*, *ace*, *efaAfs* ve *esp* genlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bakterilerde *efaAfs* ve *ace* genlerinin varlığının bulunması insana potansiyel sağlık yararları sağlama açısından önemli olabileceği, suşların insan bağırsağında kolonizasyonunu kolaylaştırarak bir avantaj sağlayabileceği düşünülmektedir.
10. İzolatların teknolojik özellikleri de belirlenerek üretilen kefirin depolanma süresinin arttırılabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla düşük sıcaklıkta gelişim gösteren bakteri ve maya izolatları starter kültür olarak seçilmemeye çalışılmıştır. Bakteri ve maya izolatlarının genel olarak pH 4 ve pH 5'te gelişebildiği belirlenmiş ve böylece bu izolatların kefir üretimi için starter kültür olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.
11. Bakteri izolatlarının bazılarının glikozdan gaz oluşturduğu ve arjinini hidrolize edebildiği tespit edilmiştir. Arjinini hidrolize eden suşların starter kültür olarak seçilmemesine özen gösterilmiş, arjinin hidrolize etmeyen bakteri suşları starter kültür olarak seçilerek, kefir ürününün sağlık açısından olumsuzluğa neden olmamasına çalışılmıştır. Köpürme özelliği kefirde istenen özellik olduğu için starter kültür olarak gaz oluşturan bakteri izolatının seçilmesi, kefirin tekstür ve kalitesini arttırılabileceği düşünülmüştür.
12. Tüm bakteri izolatlarına EPS analizi yapılmış ancak *epsA* genine sadece iki bakteri, *epsB* genine sadece 16 bakterinin sahip olduğu görülmüştür. EPS sindirilemediği için bağırsağa ulaşarak prebiyotik özellik göstermektedir. EPS'ler su tutma kapasitesini arttırdığı için EPS genlerine sahip izolatların kefir üretiminde starter kültür olarak kullanılması, depolamayla kefirin yapı ve tekstürünü daha kıvamlı hali getireceği ancak kefirin fonksiyonel özelliğini arttırabileceği düşüncesine varılmıştır.
13. Çalışmada izole edilen 334 bakteri izolatu ve 129 maya izolatının belirlenen probiyotik ve teknolojik özelliklerine göre bakterilerden ve mayalardan oluşan K₁ kefir örneği için 34, 74, 117, 249 ve 286 numaralı bakteri izolatları 502 ve 568

numaralı maya izolatları, sadece bakterilerden oluşan K₂ kefir örneği için 34, 74, 117, 249 ve 286 numaralı bakteri izolatları seçilmiştir. Ticari kültür kullanılarak da kontrol kefir örneği üretilmiştir.

14. Kefir örneklerinin depolama süresince laktik basil sayısı 7,60-9,09 log kob/mL, laktik kok sayısı 8,17- 9,14 log kob/mL, ve maya sayısının <2-5,39 log kob/mL arasında değiştiği bulunmuştur. Kefir örneklerinin laktik basil içerikleri üzerine kefir çeşidi ve depolamanın etkili olduğu ($p<0,01$), laktik kok ve maya içerikleri üzerine ise kefir çeşidi, depolama ve kefir çeşidi $\times$ depolama interaksyonunun ise etkili olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$).
15. Depolama süresince kefir örneklerinin pH değerinin 4,26-4,82 arasında değiştiği, % asitlik değerinin ise 0,72-0,84 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. pH değerleri için kefir çeşidi ve depolamanın $p<0,01$; kefir çeşidi $\times$ depolama interaksyonunun ise $p<0,05$ düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. % Asitlik değerleri için ise kefir çeşidinin $p<0,01$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir.
16. Çalışmada üretilen kefirler panelistler tarafından değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında depolama süresince genel kabul edilebilirlik özelliği açısından K₂ kefir örneğinin daha çok beğenildiği görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Abdulla, A. A., Abed, T. A. and Saeed, A. M. 2014. Adhesion, Autoaggregation and Hydrophobicity of Six *Lactobacillus* Strains. *Microbiology Research Journal International*, 4 (4), 381-391.
- Abubakr, M. a. S. 2018. Antimicrobial Activities of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Human Breast Milk Against Human Pathogenic Strains. *International Journal of Clinical and Developmental Anatomy*, 4 (1), 27-31.
- Abushelaibi, A., Al-Mahadin, S., El-Tarabily, K., Shah, N. P. and Ayyash, M. 2017. Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. *LWT - Food Science and Technology*, 79 316-325.
- Adiloğlu, A. K., Gönülateş, N., İşler, M. and Şenol, A. 2013. Kefir tüketiminin insan bağışıklık sistemi üzerine etkileri: Bir sitokin çalışması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 47 (2), 273-281.
- Agostini, C., Eckert, C., Vincenzi, A., Machado, B. L., Jordon, B. C., Kipper, J. P., Dullius, A., Dullius, C. H., Lehn, D. N., Sperotto, R. A., Pozzobon, A., Granada, C. E., Maciel, M. J. and Volken De Souza, C. F. 2018. Characterization of technological and probiotic properties of indigenous *Lactobacillus* spp. from south Brazil. *3 Biotech*, 8 (11), 451.
- Ahmed, Z., Wang, Y., Ahmad, A., Khan, S. T., Nisa, M., Ahmad, H. and Afreen, A. 2013a. Kefir and health: a contemporary perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53 (5), 422-434.
- Ahmed, Z., Wang, Y., Anjum, N., Ahmad, A. and Khan, S. T. 2013b. Characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 isolated from Tibet kefir – Part II. *Food Hydrocolloids*, 30 (1), 343-350.
- Aihara, K., Kajimoto, O., Hirata, H., Takahashi, R. and Nakamura, Y. 2005. Effect of powdered fermented milk with *Lactobacillus helveticus* on subjects with high-normal blood pressure or mild hypertension. *Journal of the American College of Nutrition*, 24 (4), 257-65.
- Ak, G. 2018. Yenilebilir Kıvamda Üretilen Meyveli Kefirlerin Fizikokimyasal, Duyusal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Y.Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Aka-Gbezo, S., Konan, A. G., N'cho, M., Achi, P. S., Koffi-Nevry, R., Koussémon-Camara, M. and Bonfoh, B. 2018. Screening of antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from anango baca slurry, a spontaneously fermented maize product used in Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11 2616-2629.
- Akay Yüce, M. 2022. Kefir Tanelerinden İzole Edilen Bazı Mikroorganizmaların Probiyotik Özelliklerinin in vitro Karakterizasyonu. Y.Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Akbörü, T. 2019. Farklı Ticari Kültürler ve Dane ile Üretilen Kefirlerin Özelliklerinin Karşılaştırılması. Y.Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Akdan, C. 2020. Manda Sütü ve Diğer Süt Karışımlarıyla Üretilen Kefirlerin Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. Y.Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

- Akpınar, A. and Yerlikaya, O. 2021. Some potential beneficial properties of *Lactocaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei* and *Leuconostoc mesenteroides* strains originating from raw milk and kefir grains. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45 (12), e15986.
- Aktaş, H. and Çetin, B. 2024. Multidimensional evaluation of techno-functional properties of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal*, 148 105795.
- Aktaş, H., Meral Aktaş, H., Ürkek, B., Şengül, M. and Çetin, B. 2023. Evaluation of Spreadable Kefir Produced from Different Milks in Terms of Some Quality Criteria. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. (early view, doi.org/10.1007/s12602-023-10129-8)
- Aktaş, H., Yıldız, S. and Çetin, B. 2022. Probiotic and Technological Properties of Isolates from Homemade and Industrial Yoghurts. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(11), e17135.
- Aktaş, H. M. and Erdoğan, A. 2022. Characterization of technological properties of lactic acid bacteria isolated from Turkish Beyaz (white) cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(10),.
- Al, A. and Yildiz, K. 2018. Kefirde Asitlik Değişimi ve Serum Ayrılmasında Meyvelerin Etkisi. *Bilim Armonisi*, 1 (1), 35-38.
- Aliyev, C. 2006. Kefir ve Yaban Mersininin Dondurmanın Fizikokimyasal, Duyusal ve Mikrobiyolojik Özelliklerine Etkisi. Y.Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Alkalbani, N. S., Turner, M. S. and Ayyash, M. M. 2019. Isolation, identification, and potential probiotic characterization of isolated lactic acid bacteria and in vitro investigation of the cytotoxicity, antioxidant, and antidiabetic activities in fermented sausage. *Microbial Cell Factories*, 18 (1), 188.
- Alkay, Z., Dertli, E. and Durak, M. 2021. Investigation of probiotic potential of yeasts isolated from sourdoughs from different regions of Turkey. *Acta Alimentaria*, 50 (4), 610-619.
- Alraddadi, F. a. J., Ross, T. and Powell, S. M. 2023. Evaluation of the microbial communities in kefir grains and kefir over time. *International Dairy Journal*, 136 105490.
- Ammor, M. S., Flórez, A. B. and Mayo, B. 2007. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology*, 24 (6), 559-70.
- Amorim, J. C., Piccoli, R. H. and Duarte, W. F. 2018. Probiotic potential of yeasts isolated from pineapple and their use in the elaboration of potentially functional fermented beverages. *Food Research International*, 107 (2018), 518-527.
- Andrighetto, C., Psomas, E., Tzanetakis, N., Suzzi, G. and Lombardi, A. 2000. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) PCR for the identification of yeasts isolated from dairy products. *Letters in Applied Microbiology*, 30 (1), 5-9.
- Angelis-Pereira, M. C., Barcelos Mde, F., Sousa, M. S. and Pereira Jde, A. 2013. Effects of the kefir and banana pulp and skin flours on hypercholesterolemic rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 28 (7), 481-6.
- Angmo, K., Kumari, A., Savitri and Bhalla, T. C. 2016. Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh. *LWT - Food Science and Technology*, 66 428-435.
- Angulo, L., Lopez, E. and Lema, C. 1993. Microflora present in kefir grains of the Galician region (north-west of Spain). *Journal of Dairy Research*, 60 (2), 263-267.
- Anonim 2022a. Codex Alimentarius Standard for fermented milks (CXS 243-2003).

- Anonim 2022b. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (2022/44). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara, Türkiye.
- Arslan, A. A. 2015. Üretim Parametrelerinin Kefirin Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi ile Üretilen Kefirlerin Peptid Profilinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Assadi, M. M., Pourahmad, R. and Moazami, N. 2000. Use of isolated kefir starter cultures in kefir production. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 16 (6), 541-543.
- Atalar, I. 2019. Functional kefir production from high pressure homogenized hazelnut milk. LWT, 107 256-263.
- Atamer, M. and Sezgin, E. 1986. Yoğurtlarda, Kurumadde Artırımının Pıhtının Fiziksel Özellikleri Üzerine Etkisi. Gıda, 11 (6).
- Ateş, H. G. 2021. Aydın İlinde Tüketime Sunulan Ticari Kefirlerin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Kalitelerinin Belirlenmesi. Y.Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi (Veteriner), Aydın.
- Atılgan, S. 2018. Kefir Danesi ve Kefir Starter Kültürü ile Üretilen Kefirlerin in vivo Olarak Probiyotik Potansiyellerinin qPCR ile Belirlenmesi. Y.Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Azhar, M. A. and Munaim, M. S. A. 2019. Identification and Evaluation of Probiotic Potential in Yeast Strains Found in Kefir Drink Samples from Malaysia. International Journal of Food Engineering, 15 (7).
- Azizkhani, M., Saris, P. E. J. and Baniasadi, M. 2021. An in-vitro assessment of antifungal and antibacterial activity of cow, camel, ewe, and goat milk kefir and probiotic yogurt. Journal of Food Measurement and Characterization, 15 (1), 406-415.
- Baran, A., Adıgüzel, M. and Yüksel, M. 2020. Prevalence of antibiotic-resistant and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in chicken meat from eastern Turkey. Pakistan Veterinary Journal, 40 (3).
- Ben Taheur, F., Kouidhi, B., Fdhila, K., Elabed, H., Ben Slama, R., Mahdouani, K., Bakhrouf, A. and Chaieb, K. 2016. Anti-bacterial and anti-biofilm activity of probiotic bacteria against oral pathogens. Microbial Pathogenesis, 97 213-220.
- Bennani, S., Mchiouer, K., Rokni, Y. and Meziane, M. 2017. Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from Moroccan raw cow's milk. Journal of Materials and Environmental Science, 8, 4934-4944.
- Bensmira, M. and Jiang, B. 2012. Effect of some operating variables on the microstructure and physical properties of a novel Kefir formulation. Journal of Food Engineering, 108 (4), 579-584.
- Bensmira, M., Nsabimana, C. and Jiang, B. 2010. Effects of fermentation conditions and homogenization pressure on the rheological properties of Kefir. LWT-Food Science and Technology, 43 (8), 1180-1184.
- Biçer, Y., Telli, A. E., Sönmez, G., Turkal, G., Telli, N. and Uçar, G. 2021. Comparison of commercial and traditional kefir microbiota using metagenomic analysis. International Journal of Dairy Technology, 74 (3), 528-534.
- Bilginer, H. 2018. Geleneksel Yöntemlerle Üretilen Sirkelerin Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi, Mikrobiyotasında Yer Alan Asetik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Moleküler Yöntemlerle Tanısı. Y.Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

- Binetti, A., Carrasco, M., Reinheimer, J. and Suárez, V. 2013. Yeasts from autochthonal cheese starters: technological and functional properties. *Journal of Applied Microbiology*, 115 (2), 434-444.
- Bodur, H. 2023. Kefirden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliklerinin ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi. Y.Lisans Tezi, Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Amasya.
- Bourrie, B. C., Willing, B. P. and Cotter, P. D. 2016. The Microbiota and Health Promoting Characteristics of the Fermented Beverage Kefir. *Frontiers in Microbiology*, 7 647.
- Bulut Albayrak, Ç. 2017. Antifungal Aktivite Üreten Laktik Asit Bakterileri. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14(1), 79-85.
- Byakika, S., Mukisa, I. M., Byaruhanga, Y. B. and Muyanja, C. 2020. Probiotic Potential of Lactic Acid Starter Cultures Isolated from a Traditional Fermented Sorghum-Millet Beverage. *International Journal of Microbiology*, 2020 7825943.
- Byakika, S., Mukisa, I. M., Mugabi, R. and Muyanja, C. 2019. Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Starters against Acid Tolerant, Antibiotic Resistant, and Potentially Virulent *E. coli* Isolated from a Fermented Sorghum-Millet Beverage. *International Journal of Microbiology*, 2019 2013539.
- Carvajal, E., Contreras, S., Díaz, W., Martinez-Bello, D., Mccown, M., Ardila, Y. and Vásquez, M. C. 2023. *Enterococcus* isolated from poultry intestine for potential probiotic use. *Veterinary World*, 16 (8), 1605-1614.
- Cemeroğlu, B. 2010. Gıda Analizleri, 2. Baskı, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:34, Ankara.
- Cevikbas, A., Yemni, E., Ezzedenn, F. W., Yardimici, T., Cevikbas, U. and Stohs, S. 1994. Antitumoural antibacterial and antifungal activities of kefir and kefir grain. *Phytotherapy Research*, 8 (2), 78-82.
- Chen, C., Chan, H. M. and Kubow, S. 2007. Kefir extracts suppress *in vitro* proliferation of estrogen-dependent human breast cancer cells but not normal mammary epithelial cells. *Journal of Medicinal Food*, 10 (3), 416-22.
- Chen, L.-S., Ma, Y., Maubois, J.-L., He, S.-H., Chen, L.-J. and Li, H.-M. 2010. Screening for the potential probiotic yeast strains from raw milk to assimilate cholesterol. *Dairy Science and Technology*, 90 (5), 537-548.
- CLSI 2020. Performance standards for antibacterial susceptibility testing (30th ed). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Coico, R. 2006. Gram Staining. *Current Protocols in Microbiology*, 1, A.3C.1-A.3C.2.
- Collar, C. 1996. Review: Biochemical and technological assessment of the metabolism of pure and mixed cultures of yeast and lactic acid bacteria in breadmaking applications. *Food Science and Technology International*, 2 (6), 349-367.
- Cui, X., Shi, Y., Gu, S., Yan, X., Chen, H. and Ge, J. 2018. Antibacterial and Antibiofilm Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Artisanal Milk Cheese from Northeast China Against Enteropathogenic Bacteria. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10 (4), 601-610.
- Culpepper, T. 2022. The Effects of Kefir and Kefir Components on Immune and Metabolic Physiology in Pre-Clinical Studies: A Narrative Review. *Cureus*, 14 (8), e27768.

- Czerucka, D., Piche, T. and Rampal, P. 2007. Review article: yeast as probiotics – *Saccharomyces boulardii*. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 26 (6), 767-778.
- Çetin, B. and Bazu Çırpıcı, B. 2023. Mayalarda Safra Tuzu Toleransının Belirlenmesinde Farklı Sıcaklık ve Besiyeri Kullanımının Etkisi. *Gıda*, 48 (5), 1004-1020.
- Çıray, Z. 2017. Piyasada Satılan Ticari Kefirlerin Mikrobiyal Kalitesinin Değerlendirilmesi. Y.Lisans Tezi, İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Çırpıcı, B. B. and Çetin, B. 2023. Determining the safety of kefir grains for public health. *Food Bioscience*, 53 (2023), 102648.
- D'aimmo, M. R., Modesto, M. and Biavati, B. 2007. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. isolated from dairy and pharmaceutical products. *International Journal of Food Microbiology*, 115 (1), 35-42.
- Davras, F. 2018. Doğal Kefir Danesinden ve Starter Kefir Kültüründen Üretilen Kefirlerin in vivo Bazı İmmünolojik Etkilerinin Karşılaştırılması. Y.Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- De Oliveira Leite, A. M., Miguel, M. A., Peixoto, R. S., Rosado, A. S., Silva, J. T. and Paschoalin, V. M. 2013. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44 (2), 341-9.
- De Paula, A. T., Jeronymo-Ceneviva, A. B., Silva, L. F., Todorov, S. D., Franco, B. D., Choiset, Y., Haertlé, T., Chobert, J. M., Dousset, X. and Penna, A. L. 2014. *Leuconostoc mesenteroides* SJRP55: A Bacteriocinogenic Strain Isolated from Brazilian Water Buffalo Mozzarella Cheese. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 6 (3-4), 186-197.
- De Vrese, M., Keller, B. and Barth, C. A. 1992. Enhancement of intestinal hydrolysis of lactose by microbial beta-galactosidase (EC 3.2.1.23) of kefir. *British Journal of Nutrition*, 67 (1), 67-75.
- Delikanli Akbay, G. 2020. Kefirin Antikanserojenik Rolü. *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5 (2), 73-82.
- Demir, M. 2001. Kefir Dondurması Üretimi ve Üretilen Dondurmaların Duyusal, Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Y.Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Dertli, E. and Çon, A. H. 2017. Microbial diversity of traditional kefir grains and their role on kefir aroma. *LWT - Food Science and Technology*, 85, 151-157.
- Dertli, E., Mercan, E., Arıcı, M., Yılmaz, M. T. and Sağdıç, O. 2016. Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 116-124.
- Diguță, C. F., Mihai, C., Toma, R. C., Cîmpeanu, C. and Matei, F. 2022. *In Vitro* Assessment of Yeasts Strains with Probiotic Attributes for Aquaculture Use. *Foods*, 12 (1).
- Dinç, A. 2008. Kefirin Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Y.Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.
- Diosma, G., Romanin, D. E., Rey-Burusco, M. F., Londero, A. and Garrote, G. L. 2014. Yeasts from kefir grains: isolation, identification, and probiotic characterization. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 30 (1), 43-53.

- Djamel Eddine, S., Yasmine, S., F, G., Bettache, G. and Mebrouk, K. 2018. Antifungal and antibacterial activity of some lactobacilli isolated from camel's milk biotope in the south of Algeria. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 8 (3), 871-877.
- Dlamini, Z. C., Langa, R. L. S., Aiyegoro, O. A. and Okoh, A. I. 2019. Safety Evaluation and Colonisation Abilities of Four Lactic Acid Bacteria as Future Probiotics. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11 (2), 397-402.
- Dobson, A., O'sullivan, O., Cotter, P. D., Ross, P. and Hill, C. 2011. High- throughput sequence- based analysis of the bacterial composition of kefir and an associated kefir grain. *FEMS Microbiology Letters*, 320 (1), 56-62.
- Dos Reis, S. A., Da Conceição, L. L., E Dias, M. M., Siqueira, N. P., Rosa, D. D., De Oliveira, L. L., Da Matta, S. L. P. and Peluzio, M. D. C. G. 2019. Kefir reduces the incidence of pre-neoplastic lesions in an animal model for colorectal cancer. *Journal of Functional Foods*, 53 1-6.
- Drago, L., De Grandi, R., De Vecchi, E. and Toscano, M. 2016. Antibiotic susceptibility profile of a new *Lactobacillus kefir* strain. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 4, 74-75.
- Duboc, P. and Mollet, B. 2001. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11 (9), 759-768.
- Eaton, T. J. and Gasson, M. J. 2001. Molecular Screening of *Enterococcus* Virulence Determinants and Potential for Genetic Exchange between Food and Medical Isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (4), 1628-1635.
- Edema, M. O. and Sanni, A. I. 2008. Functional properties of selected starter cultures for sour maize bread. *Food Microbiology*, 25 (4), 616-625.
- Egea, M. B., Santos, D. C. D., Oliveira Filho, J. G. D., Ores, J. D. C., Takeuchi, K. P. and Lemes, A. C. 2022. A review of nondairy kefir products: their characteristics and potential human health benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62 (6), 1536-1552.
- Elcioglu, O. and Kunduhoglu, B. 2014. Probiotic characteristics of natural lactobacilli isolated from traditional kargi tulum cheese. *Italian Journal of Food Science*, 26 (1), 31-40.
- Emanuel, V., Adrian, V. and Diana, P. 2010. Microbial biofilm formation under the influence of various physical-chemical factors. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24 (3), 1993-1996.
- Ercolini, D. 2004. PCR-DGGE fingerprinting: novel strategies for detection of microbes in food. *Journal of Microbiological Methods*, 56 (3), 297-314.
- Erginkaya, Z., Turhan, E. Ü. and Tatli, D. 2018. Determination of antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from traditional Turkish fermented dairy products. *Iranian journal of Veterinary Research*, 19 (1), 53-56.
- Erseç, Ç. and Demirci, A. Ş. 2023. Isolation, Identification and Determination of *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Species from The Wines Made by Spontaneous Fermentation Using Papazkarası Grapes from Thrace Region. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20 (1), 155-165.
- Ertekin, B. and Guzel-Seydim, Z. B. 2010. Effect of fat replacers on kefir quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90 (4), 543-548.

- Fadda, M. E., Mossa, V., Deplano, M., Pisano, M. B. and Cosentino, S. 2017. In vitro screening of *Kluyveromyces* strains isolated from Fiore Sardo cheese for potential use as probiotics. *LWT*, 75 100-106.
- FAO/WHO 2001. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, Córdoba, Argentina, 1-4 October 2001. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Farnworth, E. R. 2005. Kefir—a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 2 (1), 1-17.
- Fernandez-Pacheco, P., Arévalo-Villena, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R. and Briones Pérez, A. 2018. Probiotic characteristics in *Saccharomyces cerevisiae* strains: Properties for application in food industries. *LWT*, 97, 332-340.
- Fooks, L. J., Fuller, R. and Gibson, G. R. 1999. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal*, 9 (1), 53-61.
- Frece, J., Cvrtila, J., Topić, I., Delaš, F. and Markov, K. 2014. *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* as potential functional starter culture. *Food Technology and Biotechnology*, 52 (4), 489-494.
- Frengova, G. I., Simova, E. D., Beshkova, D. M. and Simov, Z. I. 2002. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria of kefir grains. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57 (9-10), 805-10.
- Furukawa, N., Matsuoka, A. and Yamanaka, Y. 1990. Effects of orally administered yogurt and kefir on tumor growth in mice. *Journal of Japan Society of Nutrition and Food Sciences*, 43, 450-453.
- Gao, J., Gu, F., Abdella, N. H., Ruan, H. and He, G. 2012. Investigation on culturable microflora in Tibetan kefir grains from different areas of China. *Journal of Food Science*, 77 (8), M425-33.
- Gao, X. and Li, B. 2016. Chemical and microbiological characteristics of kefir grains and their fermented dairy products: A review. *Cogent Food and Agriculture*, 2 (1), 1272152.
- Garbers, I. M., Britz, T. J. and Witthuhn, R. C. 2004. PCR-based denaturing gradient gel electrophoretic typification and identification of the microbial consortium present in kefir grains. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20 (7), 687-693.
- García-Hernández, Y., Rodríguez, Z., Brandão, L. R., Rosa, C. A., Nicoli, J. R., Elías Iglesias, A., Pérez-Sánchez, T., Salabarría, R. B. and Halaihel, N. 2012. Identification *and in vitro* screening of avian yeasts for use as probiotic. *Research in Veterinary Science*, 93 (2), 798-802.
- Garofalo, C., Ferrocino, I., Reale, A., Sabbatini, R., Milanović, V., Alkić-Subašić, M., Boscaino, F., Aquilanti, L., Pasquini, M., Trombetta, M. F., Tavoletti, S., Coppola, R., Cocolin, L., Blesić, M., Sarić, Z., Clementi, F. and Osimani, A. 2020. Study of kefir drinks produced by backslopping method using kefir grains from Bosnia and Herzegovina: Microbial dynamics and volatile profile. *Food Research International*, 137 109369.
- Garofalo, C., Osimani, A., Milanović, V., Aquilanti, L., De Filippis, F., Stellato, G., Di Mauro, S., Turchetti, B., Buzzini, P., Ercolini, D. and Clementi, F. 2015. Bacteria and yeast microbiota in milk kefir grains from different Italian regions. *Food Microbiology*, 49 123-33.

- Garrote, G. L., Abraham, A. G. and De Antoni, G. L. 1997. Preservation of Kefir Grains, a Comparative Study. *LWT - Food Science and Technology*, 30 (1), 77-84.
- Garrote, G. L., Abraham, A. G. and De Antoni, G. L. 2001. Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *Journal of Dairy Research*, 68 (4), 639-652.
- Gaware, V., Kotade, K., Dolas, R., Dhamak, K., Somwanshi, S., Nikam, V., Khadse, A. and Kashid, V. 2011. The magic of kefir : a review. *Pharmacology online*, 1 376-386.
- Ghoddusi, H. and Hassan, K. 2011. Selective enumeration of Bifidobacteria: A comparative study. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 66, 149-151.
- Gil-Rodríguez, A. M., Carrascosa, A. V. and Requena, T. 2015. Yeasts in foods and beverages: In vitro characterisation of probiotic traits. *LWT - Food Science and Technology*, 64 (2), 1156-1162.
- Goktas, H., Dertli, E. and Sagdic, O. 2021a. Comparison of functional characteristics of distinct *Saccharomyces boulardii* strains isolated from commercial food supplements. *LWT*, 136 110340.
- Goktas, H., Dikmen, H., Demirbas, F., Sagdic, O. and Dertli, E. 2021b. Characterisation of probiotic properties of yeast strains isolated from kefir samples. *International Journal of Dairy Technology*, 74 (4), 715-722.
- Golomb, B. L. and Marco, M. L. 2015. *Lactococcus lactis* metabolism and gene expression during growth on plant tissues. *Journal of Bacteriology*, 197 (2), 371-81.
- Goncu, B., Çelikel Güngör, A., Akin, M. B. and Akin, S. 2017. Some properties of kefir enriched with apple and lemon fiber. *Mljekarstvo*, 67 208-216.
- González-Vázquez, R., Azaola-Espinosa, A., Mayorga-Reyes, L., Reyes-Nava, L. A., Shah, N. P. and Rivera-Espinoza, Y. 2015. Isolation, Identification and Partial Characterization of a *Lactobacillus casei* Strain with Bile Salt Hydrolase Activity from Pulque. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 7 (4), 242-248.
- Graham, K., Stack, H. and Rea, R. 2020. Safety, beneficial and technological properties of enterococci for use in functional food applications – a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60 (22), 3836-3861.
- Grønnevik, H., Falstad, M. and Narvhus, J. A. 2011. Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage. *International Dairy Journal*, 21 (9), 601-606.
- Guangsen, T., Xiang, L. and Jiahu, G. 2021. Microbial diversity and volatile metabolites of kefir prepared by different milk types. *CyTA - Journal of Food*, 19 (1), 399-407.
- Gueimonde, M., Sánchez, B., C, G. D. L. R.-G. and Margolles, A. 2013. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 4, 202.
- Gullo, M. and Giudici, P. 2006. Isolation and selection of acetic acid bacteria strains for traditional balsamic vinegar. *International Journal of Food Microbiology*, 106 209-212.
- Gut, A. M., Vasiljevic, T., Yeager, T. and Donkor, O. N. 2019. Characterization of yeasts isolated from traditional kefir grains for potential probiotic properties. *Journal of Functional Foods*, 58, 56-66.
- Guzel-Seydim, Z., Seydim, A. C. and Greene, A. K. 2000. Organic Acids and Volatile Flavor Components Evolved During Refrigerated Storage of Kefir. *Journal of Dairy Science*, 83 (2), 275-277.
- Guzel-Seydim, Z., Wyffels, J. T., Seydim, A. C. and Greene, A. K. 2005. Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscobic observation. *International Journal of Dairy Technology*, 58 (1), 25-29.

- Guzel-Seydim, Z. B., Kok-Tas, T., Greene, A. K. and Seydim, A. C. 2011. Review: Functional Properties of Kefir. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51 (3), 261-268.
- Guzel-Seydim, Z. B., Seydim, A. C. and Greene, A. K. 2003. Comparison of amino acid profiles of milk, yogurt and Turkish kefir. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 58 158-160.
- Guzeler, N., Ari, E., Konuray, G. and Ozbek, C. 2019. Physicochemical and microbiological properties of kefir, kefir yogurt and chickpea yogurt. *International Journal of Nutrition and Food Engineering*, 13 (7), 189-192.
- Gün, I. 2022. Comparison of composition, sensory properties and aroma compounds of kefir produced from donkey milk and cow milk. *Mljekarstvo*, 72 (4), 213-225.
- Gürkan Özlü, B., Terzi, Y., Uyar, E., Shatila, F. and Yalçın, H. T. 2022. Characterization and determination of the potential probiotic yeasts isolated from dairy products. *Biologia*, 77 (5), 1471-1480.
- Güven, A., Güven, A. and Gülmez, M. 2003. The Effect of Kefir on the Activities of GSH-Px, GST, CAT, GSH and LPO Levels in Carbon Tetrachloride-Induced Mice Tissues. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 50 (8), 412-416.
- Güzel-Seydim, Z., Seydim, A., Greene, A. and Bodine, A. 2000. Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13 (1), 35-43.
- Hamdaoui, N., Rokni, Y., Asehraou, A., Mouncif, M., Mennane, Z., Omari, A., Sellam, A., Hammouti, B. and Meziane, M. 2023. Technological aptitude and sensitivity of lactic acid bacteria leuconostoc isolated from raw milk of cows: From step-by-step experimental procedure to the results. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 8 (2), 157-170.
- Hamet, M. F., Londero, A., Medrano, M., Vercammen, E., Van Hoorde, K., Garrote, G. L., Huys, G., Vandamme, P. and Abraham, A. G. 2013. Application of culture-dependent and culture-independent methods for the identification of *Lactobacillus kefirianofaciens* in microbial consortia present in kefir grains. *Food Microbiology*, 36 (2), 327-34.
- Harrigan, W. F. 1998. *Laboratory methods in food microbiology*, Academics Press, California, USA.
- Hassan, M. S. E. S. 2020. Detection of Probiotic Microorganisms Using RT-PCR, and Isolation, Identification, Probiotic Properties of *Lactobacillus* Species from Kefir. *Doktora Tezi, Orta Doğu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- Hertzler, S. R. and Clancy, S. M. 2003. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *Journal of the American Dietetic Association*, 103 (5), 582-587.
- Hong, W.-S., Chen, H.-C., Chen, Y.-P. and Chen, M.-J. 2009. Effects of kefir supernatant and lactic acid bacteria isolated from kefir grain on cytokine production by macrophage. *International Dairy Journal*, 19 (4), 244-251.
- Hosono, A., Tanabe, T. and Otani, H. 1990. Binding properties of lactic acid bacteria isolated from kefir milk with mutagenic amino acid pyrolyzates. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 45 (10), 647-651.
- Hsiung, R.-T., Fang, W.-T., Lepage, B. A., Hsu, S.-A., Hsu, C.-H. and Chou, J.-Y. 2021. In Vitro Properties of Potential Probiotic Indigenous Yeasts Originating from Fermented Food and Beverages in Taiwan. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13 (1), 113-124.

- Hsu, S.-A. and Chou, J.-Y. 2021. Yeasts in Fermented Food and Kefir: *In Vitro* Characterization of Probiotic Traits. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 31 (2), 567-582.
- Ilıkkın, Ö. K. and Bağdat, E. Ş. 2021. Comparison of bacterial and fungal biodiversity of Turkish kefir grains with high-throughput metagenomic analysis. *LWT*, 152, 112375.
- Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P. and Ibáñez, F. C. 2005. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90 (4), 613-620.
- İrkin, R. and Berkkaçan, E. G. 2022. Improving Some Properties Of Cow and Goat Mixed Milk Based Kefir With Inulin Addition as a Functional Food. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 25 (3), 556-564.
- Ispirli, H. and Dertli, E. 2017. Isolation and characterisation of lactic acid bacteria from traditional koumiss and kurut. *International Journal of Food Properties*, 20 (sup3), S2441-S2449.
- Jambhulkar, A. B. 2020. Preparation and health benefits of kefir: a review. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 7 (12).
- Kalamaki, M. S. and Angelidis, A. S. 2020. High-Throughput, Sequence-Based Analysis of the Microbiota of Greek Kefir Grains from Two Geographic Regions. *Food Technology and Biotechnology*, 58 (2), 138-146.
- Karatepe, P. and Yalçın, H. 2014. Kefirli Sağlık. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(2) 23-30.
- Kesenkaş, H., Yerlikaya, O. and Özer, E. 2013. A functional milk beverage: Kefir. *Agro Food Industry Hi Tech*, 24 (6), 53-55.
- Kesmen, Z. and Kacmaz, N. 2011. Determination of lactic microflora of kefir grains and kefir beverage by using culture-dependent and culture-independent methods. *Journal of Food Science*, 76 (5), M276-283.
- Kılıç Kanak, E. and Öztürk Yılmaz, S. 2019. Probiotic Yeasts and the Role of Yeasts in Probiotic Foods. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7 (9), 1268-1274.
- Kim, D.-H., Chon, J.-W., Kim, H., Kim, H.-S., Choi, D., Hwang, D.-G. and Seo, K.-H. 2015. Detection and Enumeration of Lactic Acid Bacteria, Acetic Acid Bacteria and Yeast in Kefir Grain and Milk Using Quantitative Real-Time PCR. *Journal of Food Safety*, 35 (1), 102-107.
- Kıvanç, M. and Yapıcı, E. 2015. Kefir as a Probiotic Dairy Beverage: Determination Lactic Acid Bacteria and Yeast. *International Journal of Food Engineering*, 1 (1), 55-60.
- Kleerebezem, M., Van Kranenburg, R., Tuinier, R., Boels, I. C., Zoon, P., Looijesteijn, E., Hugenholtz, J. and De Vos, W. M. 1999. Exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis*: from genetic engineering to improved rheological properties? *Antonie Van Leeuwenhoek*, 76 (1-4), 357-365.
- Klein, G., Hallmann, C., Casas, I. A., Abad, J., Louwers, J. and Reuter, G. 2000. Exclusion of vanA, vanB and vanC type glycopeptide resistance in strains of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus rhamnosus* used as probiotics by polymerase chain reaction and hybridization methods. *Journal of Applied Microbiology*, 89 (5), 815-824.
- Koca, A. 2016. Rendelenmiş Trabzon Hurması, Muz ve Elma İlave Edilerek Üretilen Kefir Yoğurtlarının Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özelliklerinin Depolama Süresince Değişimi. Y.Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

- Konak, Ü. İ., Turhan, İ. and Certel, M. 2014. Proteinlerin Kromatografik Yöntemlerle Saflaştırılması. Akademik Gıda, 12 (2), 79-87.
- Kos, B., Šušković, J., Vuković, S., Šimpraga, M., Frece, J. and Matošić, S. 2003. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. Journal of Applied Microbiology, 94 (6), 981-987.
- Kostinek, M., Specht, I., Edward, V. A., Pinto, C., Egounlety, M., Sossa, C., Mbugua, S., Dortu, C., Thonart, P., Taljaard, L., Mengu, M., Franz, C. M. a. P. and Holzapfel, W. H. 2007. Characterisation and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures. International Journal of Food Microbiology, 114 (3), 342-351.
- Kök-Taş, T., Seydim, A. C., Özer, B. and Guzel-Seydim, Z. B. 2013. Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir. Journal of Dairy Science, 96 (2), 780-789.
- Kök Taş, T., Ekinci, F. Y. and Guzel- Seydim, Z. B. 2012. Identification of microbial flora in kefir grains produced in Turkey using PCR. International Journal of Dairy Technology, 65 (1), 126-131.
- Köroğlu, Ö., Bakir, E., Uludağ, G., Köroğlu, S. and Dayisoğlu, K. S. 2015. Kefir ve Sağlık. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi, 18 (1), 26-30.
- Kumar, A. and Kumar, D. 2015. Characterization of *Lactobacillus* isolated from dairy samples for probiotic properties. Anaerobe, 33, 117-123.
- Kunyeit, L., Rao, R. P. and Anu-Appaiah, K. A. 2023. Yeasts originating from fermented foods, their potential as probiotics and therapeutic implication for human health and disease. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1-12.
- Kwak, H. S., Park, S. K. and Kim, D. S. 1996. Biostabilization of Kefir with a Nonlactose-Fermenting Yeast. Journal of Dairy Science, 79 (6), 937-942.
- Kwon, Y.-I., Apostolidis, E. and Shetty, K. 2006. Anti-Diabetes Functionality of Kefir Culture-Mediated Fermented Soymilk Supplemented with *Rhodiola* Extracts. Food Biotechnology, 20 (1), 13-29.
- Lee, M.-Y., Ahn, K.-S., Kwon, O.-K., Kim, M.-J., Kim, M.-K., Lee, I.-Y., Oh, S.-R. and Lee, H.-K. 2007. Anti-inflammatory and anti-allergic effects of kefir in a mouse asthma model. Immunobiology, 212 (8), 647-654.
- Lee, N.-K., Han, K. J., Son, S.-H., Eom, S. J., Lee, S.-K. and Paik, H.-D. 2015. Multifunctional effect of probiotic *Lactococcus lactis* KC24 isolated from kimchi. LWT - Food Science and Technology, 64 (2), 1036-1041.
- Leite, A. M., Mayo, B., Rachid, C. T., Peixoto, R. S., Silva, J. T., Paschoalin, V. M. and Delgado, S. 2012. Assessment of the microbial diversity of Brazilian kefir grains by PCR-DGGE and pyrosequencing analysis. Food Microbiology, 31 (2), 215-21.
- Leite, A. M. O., Miguel, M. a. L., Peixoto, R. S., Ruas-Madiedo, P., Paschoalin, V. M. F., Mayo, B. and Delgado, S. 2015. Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains. Journal of Dairy Science, 98 (6), 3622-3632.
- Li, Y., Liu, T. and He, G.-Q. 2015. Isolation and Identification of Yeasts from Tibet Kefir. Advance Journal of Food Science and Technology, 7, 199-203.
- Libkind, D., Brizzio, S., Ruffini, A., Gadanho, M., Van Broock, M. and Paulo Sampaio, J. 2003. Molecular characterization of carotenogenic yeasts from aquatic environments in Patagonia, Argentina. Antonie van Leeuwenhoek, 84 (4), 313-322.

- Lieckfeldt, E., Meyer, W. and Börner, T. 1993. Rapid identification and differentiation of yeasts by DNA and PCR fingerprinting. *Journal of Basic Microbiology*, 33 (6), 413-425.
- Lim, H.-W., Kim, D.-H., Jeong, D., Kang, I.-B., Kim, H. and Seo, K.-H. 2019. Biochemical characteristics, virulence traits and antifungal resistance of two major yeast species isolated from kefir: *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces unisporus*. *International Journal of Dairy Technology*, 72 (2), 275-281.
- Liu, C., Zhang, Z.-Y., Dong, K., Yuan, J.-P. and Guo, X.-K. 2009. Antibiotic Resistance of Probiotic Strains of Lactic Acid Bacteria Isolated from Marketed Foods and Drugs. *Biomedical and Environmental Sciences*, 22 (5), 401-412.
- Liu, S., Lu, S.-Y., Qureshi, N., Enshasy, H. a. E. and Skory, C. D. 2022. Antibacterial Property and Metagenomic Analysis of Milk Kefir. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*.
- Lohith, K. and Appaiah, K. a. A. 2014. In Vitro Probiotic Characterization of Yeasts of Food and Environmental Origin. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 9 (3), 87-92.
- Lööke, M., Kristjuhan, K. and Kristjuhan, A. 2011. Extraction of genomic DNA from yeasts for PCR-based applications. *Biotechniques*, 50 (5), 325-328.
- Lopitz-Otsoa, F., Rementeria, A., Elguezabal, N. and Garaizar, J. 2006. Kefir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. *Revista Iberoamericana de Micología*, 23 (2), 67-74.
- Low, D., Ahlgren, J. A., Horne, D., McMahon, D. J., Oberg, C. J. and Broadbent, J. R. 1998. Role of *Streptococcus thermophilus* MR-1C capsular exopolysaccharide in cheese moisture retention. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (6), 2147-2151.
- Lu, W., Kong, W., Yang, P. and Kong, J. 2015. A one-step PCR-based method for specific identification of 10 common lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* in fermented milk. *International Dairy Journal*, 41, 7-12.
- M. Adisa, A., O. T. Ifesan, B., Enujiugha, V. N. and B. Adepeju, A. 2020. Microbiological and Probiotic Assessment of Yeast Isolated from Wholegrain Millet Sourdoughs. *Journal of Advances in Microbiology*, 20 (1), 1-10.
- Maeda, H., Zhu, X., Suzuki, S., Suzuki, K. and Kitamura, S. 2004. Structural Characterization and Biological Activities of an Exopolysaccharide Kefiran Produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* WT-2BT. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (17), 5533-5538.
- Magalhães, K. T., De Melo Pereira, G. V., Campos, C. R., Dragone, G. and Schwan, R. F. 2011a. Brazilian kefir: structure, microbial communities and chemical composition. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42 (2), 693-702.
- Magalhães, K. T., Dragone, G., De Melo Pereira, G. V., Oliveira, J. M., Domingues, L., Teixeira, J. A., E Silva, J. B. A. and Schwan, R. F. 2011b. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. *Food Chemistry*, 126 (1), 249-253.
- Magra, T. I., Antoniou, K. D. and Psomas, E. I. 2012. Effect of milk fat, kefir grain inoculum and storage time on the flow properties and microbiological characteristics of kefir. *Journal of Texture Studies*, 43 (4), 299-308.
- Mantzourani, I., Chondrou, P., Bontsidis, C., Karolidou, K., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Galanis, A. and Plessas, S. 2019. Assessment of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from kefir grains: evaluation of adhesion and

- antiproliferative properties in in vitro experimental systems. *Annals of Microbiology*, 69 (7), 751-763.
- Maragkoudakis, P. A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B. and Tsakalidou, E. 2006. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, 16 (3), 189-199.
- Marsh, A. J., O'sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P. and Cotter, P. D. 2013. Sequencing-based analysis of the bacterial and fungal composition of kefir grains and milks from multiple sources. *PloS One*, 8 (7), e69371-e69371.
- Marshall, M. N., Cocolin, L., Mills, D. A. and Vandergheynst, J. S. 2003. Evaluation of PCR primers for denaturing gradient gel electrophoresis analysis of fungal communities in compost. *Journal of Applied Microbiology*, 95 (5), 934-948.
- Marshall, V. M. and Cole, W. M. 1985. Methods for making kefir and fermented milks based on kefir. *Journal of Dairy Research*, 52 (3), 451-456.
- Martín-Platero, A. M., Valdivia, E., Maqueda, M. and Martínez-Bueno, M. 2009. Characterization and safety evaluation of enterococci isolated from Spanish goats' milk cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 132 (1), 24-32.
- Masco, L., Van Hoorde, K., De Brandt, E., Swings, J. and Huys, G. 2006. Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium* strains from humans, animals and probiotic products. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58 (1), 85-94.
- Mathara, J. M., Schillinger, U., Guigas, C., Franz, C., Kutima, P. M., Mbugua, S. K., Shin, H. K. and Holzapfel, W. H. 2008. Functional characteristics of *Lactobacillus* spp. from traditional Maasai fermented milk products in Kenya. *International Journal of Food Microbiology*, 126 (1), 57-64.
- Mathur, S. and Singh, R. 2005. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 105 (3), 281-295.
- Meena, K. K., Taneja, N. K., Jain, D., Ojha, A., Kumawat, D. and Mishra, V. 2022. In Vitro Assessment of Probiotic and Technological Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Indigenously Fermented Cereal-Based Food Products. *Fermentation*, 8 (10), 529.
- Mgomi, F. C., Yang, Y.-R., Cheng, G. and Yang, Z.-Q. 2023. Lactic acid bacteria biofilms and their antimicrobial potential against pathogenic microorganisms. *Biofilm*, 5, 100118.
- Miguel, M. G. D. C. P., Cardoso, P. G., De Assis Lago, L. and Schwan, R. F. 2010. Diversity of bacteria present in milk kefir grains using culture-dependent and culture-independent methods. *Food Research International*, 43 (5), 1523-1528.
- Mirzaei, E., Lashani, E. and Davoodabadi, A. 2018. Antimicrobial properties of lactic acid bacteria isolated from traditional yogurt and milk against *Shigella* strains. *GMS Hygiene and Infection Control*, 13, 1-5.
- Morelli, L. 2007. In vitro assessment of probiotic bacteria: From survival to functionality. *International Dairy Journal*, 17 (11), 1278-1283.
- Motaghi, M., Mazaheri, M., Moazami, N., Farkhondeh, A., Fooladi, M. H. and Goltapeh, E. M. 1997. Kefir production in Iran. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 13 (5), 579-581.
- Muir, D. D., Tamime, A. Y. and Wszolek, M. 1999. Comparison of the sensory profiles of kefir, buttermilk and yogurt. *International Journal of Dairy Technology*, 52 (4), 129-134.

- Nalbantoglu, U., Cakar, A., Dogan, H., Abaci, N., Ustek, D., Sayood, K. and Can, H. 2014. Metagenomic analysis of the microbial community in kefir grains. *Food Microbiology*, 41, 42-51.
- Nejati, F., Junne, S. and Neubauer, P. 2020. A Big World in Small Grain: A Review of Natural Milk Kefir Starters. *Microorganisms*, 8 (2), 192.
- Nielsen, B., Gürakan, G. C. and Ünlü, G. 2014. Kefir: a multifaceted fermented dairy product. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 6 (3-4), 123-135.
- Nikolic, M., Jovcic, B., Kojic, M. and Topisirovic, L. 2010. Surface properties of *Lactobacillus* and *Leuconostoc* isolates from homemade cheeses showing auto-aggregation ability. *European Food Research and Technology*, 231 (6), 925-931.
- Noriega, L., Cuevas, I., Margolles, A. and De Los Reyes-Gavilán, C. G. 2006. Deconjugation and bile salts hydrolase activity by *Bifidobacterium* strains with acquired resistance to bile. *International Dairy Journal*, 16 (8), 850-855.
- Ntiantiasi, N. and Lianou, A. 2023. Isolation and *in vitro* screening of the probiotic potential of microorganisms from fermented food products. *Frontiers in Industrial Microbiology*, 1.
- Osada, K., Nagira, K., Teruya, K., Tachibana, H., Shirahata, S. and Murakami, H. 1993. Enhancement of interferon-beta production with sphingomyelin from fermented milk. *Biotherapy*, 7 (2), 115-23.
- Otles, S. and Cagindi, O. 2003. Kefir: a probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2 (2), 54-59.
- Otunba, A. A., Osuntoki, A. A., Olukoya, D. K. and Babalola, B. A. 2021. Genomic, biochemical and microbial evaluation of probiotic potentials of bacterial isolates from fermented sorghum products. *Heliyon*, 7 (12), e08536.
- Öner, Z., Karahan, A. G. and Çakmakçı, M. L. 2010. Effects of different milk types and starter cultures on kefir. *Gıda*, 35 (3), 177-182.
- Özdemir, N., Kök-Taş, T. and Guzel-Seydim, Z. 2015. Effect of *Gluconacetobacter* spp. on kefir grains and kefir quality. *Food Science and Biotechnology*, 24 (1), 99-106.
- Özkan, E. R., Demirci, T. and Akın, N. 2021. *In vitro* assessment of probiotic and virulence potential of *Enterococcus faecium* strains derived from artisanal goatskin casing Tulum cheeses produced in central Taurus Mountains of Turkey. *LWT*, 141, 110908.
- Palomba, S., Cavella, S., Torrieri, E., Piccolo, A., Mazzei, P., Blaiotta, G., Ventrino, V. and Pepe, O. 2012. Polyphasic screening, homopolysaccharide composition, and viscoelastic behavior of wheat Sourdough from a *Leuconostoc lactis* and *Lactobacillus curvatus* exopolysaccharide-producing starter culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 78 (8), 2737-2747.
- Paschoalini, B. R., Nuñez, K. V. M., Maffei, J. T., Langoni, H., Guimarães, F. F., Gebara, C., Freitas, N. E., Dos Santos, M. V., Fidelis, C. E., Kappes, R., Gonçalves, M. C. and Silva, N. C. C. 2023. The Emergence of Antimicrobial Resistance and Virulence Characteristics in *Enterococcus* Species Isolated from Bovine Milk. *Antibiotics (Basel)*, 12 (8).
- Pedersen, L. L., Owusu-Kwarteng, J., Thorsen, L. and Jespersen, L. 2012. Biodiversity and probiotic potential of yeasts isolated from *Fura*, a West African spontaneously fermented cereal. *International Journal of Food Microbiology*, 159 (2), 144-151.
- Perricone, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R. and Sinigaglia, M. 2014. Technological characterization and probiotic traits of yeasts isolated from Altamura sourdough to

- select promising microorganisms as functional starter cultures for cereal-based products. *Food Microbiology*, 38, 26-35.
- Pichhardt, K., Sekin, Y. and Karagözlü, N. 2004. Gıda mikrobiyolojisi: gıda endüstrisi için temel esaslar ve uygulamalar, Literatür.
- Pieniz, S., Andreatza, R., Anghinoni, T., Camargo, F. and Brandelli, A. 2014. Probiotic potential, antimicrobial and antioxidant activities of *Enterococcus durans* strain LAB18s. *Food Control*, 37, 251-256.
- Plessas, S., Nouska, C., Mantzourani, I., Kourkoutas, Y., Alexopoulos, A. and Bezirtzoglou, E. 2017. Microbiological Exploration of Different Types of Kefir Grains. *Fermentation*, 3 (1), 1-10.
- Pogacic, T., Šinko, S., Zamberlin, Š. and Samarzija, D. 2013. Microbiota of kefir grains. *Mljekarstvo*, 63(1) 3-14.
- Prado, M. R., Blandón, L. M., Vandenberghe, L. P. S., Rodrigues, C., Castro, G. R., Thomaz-Soccol, V. and Soccol, C. R. 2015. Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers in Microbiology*, 6 1177-1177.
- Prasad, J., Gill, H., Smart, J. and Gopal, P. K. 1998. Selection and Characterisation of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Strains for Use as Probiotics. *International Dairy Journal*, 8 (12), 993-1002.
- Provencher, C., Lapointe, G., Sirois, S., Van Calsteren, M. R. and Roy, D. 2003. Consensus-degenerate hybrid oligonucleotide primers for amplification of priming glycosyltransferase genes of the exopolysaccharide locus in strains of the *Lactobacillus casei* group. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (6), 3299-3307.
- Psomas, E., Andrighetto, C., Litopoulou-Tzanetaki, E., Lombardi, A. and Tzanetakis, N. 2001. Some probiotic properties of yeast isolates from infant faeces and Feta cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 69 (1-2), 125-133.
- Psomas, E. I., Fletouris, D. J., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Tzanetakis, N. 2003. Assimilation of cholesterol by yeast strains isolated from infant feces and Feta cheese. *Journal of Dairy Science*, 86 (11), 3416-3422.
- Purutoğlu, K. 2018. Geleneksel Kefir Danelerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların Tanımlanması ile Bu Mikroorganizmaların Bazı Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi. Y.Lisans Tezi, Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bayburt.
- Purutoğlu, K., İspirli, H., Yüzer, M. O., Serencam, H. and Dertli, E. 2020. Diversity and functional characteristics of lactic acid bacteria from traditional kefir grains. *International Journal of Dairy Technology*, 73 (1), 57-66.
- Quirós, A., Hernández-Ledesma, B., Ramos, M., Amigo, L. and Recio, I. 2005. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitory Activity of Peptides Derived from Caprine Kefir. *Journal of Dairy Science*, 88 (10), 3480-3487.
- Rahman, M. M., Kim, W.-S., Kumura, H. and Shimazaki, K.-I. 2008. Autoaggregation and surface hydrophobicity of bifidobacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24 (8), 1593-1598.
- Rahmani, B., Alimadadi, N., Attaran, B. and Nasr, S. 2022. Yeasts from Iranian traditional milk kefir samples: isolation, molecular identification and their potential probiotic properties. *Letters in Applied Microbiology*, 75 (5), 1264-1274.
- Ratnayake, F. and O'Connell, M. 2011. Fermented Milks Kefir. In: Fukay, J. W. (ed.) *Encyclopedia of Dairy Sciences*. (2th). ed. Academic Press, San Diego, USA, p.518-524.

- Rea, M. C., Lennartsson, T., Dillon, P., Drinan, F. D., Reville, W. J., Heapes, M. and Cogan, T. M. 1996. Irish kefir-like grains: their structure, microbial composition and fermentation kinetics. *Journal of Applied Bacteriology*, 81 (1), 83-94.
- Ren, D., Zhu, J., Gong, S., Liu, H. and Yu, H. 2018. Antimicrobial Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Homemade Fermented Foods. *BioMed Research International*, 2018, 5416725.
- Reviriego, C., Eaton, T., Martín, R., Jiménez, E., Fernández, L., Gasson, M. J. and Rodríguez, J. M. 2005. Screening of virulence determinants in *Enterococcus faecium* strains isolated from breast milk. *Journal of Human Lactation*, 21 (2), 131-137.
- Rezaei, M., Noori, N., Shariatifar, N., Gandomi, H., Akhondzadeh Basti, A. and Mousavi Khaneghah, A. 2020. Isolation of lactic acid probiotic strains from Iranian camel milk: Technological and antioxidant properties. *LWT*, 132, 109823.
- Rivière, J. W., Kooiman, P. and Schmidt, K. 1967. Kefiran, a novel polysaccharide produced in the kefir grain by *Lactobacillus brevis*. *Archives of Microbiology*, 59 (1), 269-278.
- Rizk, S., Maalouf, K. and Baydoun, E. 2009. The antiproliferative effect of kefir cell-free fraction on HuT-102 malignant T lymphocytes. *Clinical Lymphoma and Myeloma*, 9 Suppl 3, S198-203.
- Rodrigues, K. L., Caputo, L. R. G., Carvalho, J. C. T., Evangelista, J. and Schneedorf, J. M. 2005. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25 (5), 404-408.
- Rosa, D. D., Dias, M. M. S., Grześkowiak, Ł. M., Reis, S. A., Conceição, L. L. and Peluzio, M. D. C. G. 2017. Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. *Nutrition Research Reviews*, 30 (1), 82-96.
- Sabir, F., Beyatli, Y., Cokmus, C. and Onal- Darilmaz, D. 2010. Assessment of potential probiotic properties of *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., and *Pediococcus* spp. strains isolated from kefir. *Journal of Food Science*, 75 (9), M568-M573.
- Saleem, K., Ikram, A., Saeed, F., Afzaal, M., Ateeq, H., Hussain, M., Raza, A., Rasheed, A., Asghar, A. and Asif Shah, M. 2023. Nutritional and functional properties of kefir: review. *International Journal of Food Properties*, 26 (2), 3261-3274.
- Santos, A., San Mauro, M., Sanchez, A., Torres, J. M. and Marquina, D. 2003. The Antimicrobial Properties of Different Strains of *Lactobacillus* spp. Isolated from Kefir. *Systematic and Applied Microbiology*, 26 (3), 434-437.
- Sarıca, E. 2019. Farklı Sütlerden Yapılan Kefirlerin Buzdolabı Sıcaklığında ve Dondurarak Depolanması Esnasında Meydana Gelen Değişmeler. *Doktora Tezi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu*.
- Sarıca, E. 2022. Kefirin Üretimi, Özellikleri ve Alkol İçeriği. *Helal ve Etik Araştırmalar Dergisi*, 4 (2), 69-82.
- Sarkar, S. 2008. Biotechnological innovations in kefir production: a review. *British Food Journal*, 110 (3), 283-295.
- Seddik, H. A., Bendali, F., Cudennec, B. and Drider, D. 2017. Anti-pathogenic and probiotic attributes of *Lactobacillus salivarius* and *Lactobacillus plantarum* strains isolated from feces of Algerian infants and adults. *Research in Microbiology*, 168 (3), 244-254.
- Sert, S. 2000. Genel Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınlar No: 138, Erzurum.

- Setyawardani, T., Sumarmono, J. and Widayaka, K. 2020. Physical and Microstructural Characteristics of Kefir Made of Milk and Colostrum. *Buletin Peternakan*, 44 (1), 43-49.
- Shaheen, A., El-Baghdady, K. Z. and Zakaria, A. 2019. Isolation and Identification of Potent Probiotics with High Lead Removal Capability. *Egyptian Journal of Botany*, 59 (1), 95-105.
- Sharafi, S., Rasooli, I. and Beheshti-Maal, K. 2010. Isolation, characterization and optimization of indigenous acetic acid bacteria and evaluation of their preservation methods. *Iranian Journal Of Microbiology*, 2 (1), 38-45.
- Shehata, M. G., El Sohaimy, S. A., El-Sahn, M. A. and Youssef, M. M. 2016. Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity. *Annals of Agricultural Sciences*, 61 (1), 65-75.
- Shokryazdan, P., Sieo, C. C., Kalavathy, R., Liang, J. B., Alitheen, N. B., Faseleh Jahromi, M. and Ho, Y. W. 2014. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains with antimicrobial activity against some human pathogenic strains. *BioMed Research International*, 2014 927268.
- Shruthi, B., Deepa, N., Somashekaraiah, R., Adithi, G., Divyashree, S. and Sreenivasa, M. Y. 2022. Exploring biotechnological and functional characteristics of probiotic yeasts: A review. *Biotechnology Reports*, 34 e00716.
- Shukla, R. K., Iliev, I. and Goyal, A. 2014. *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1149 as probiotic and its dextran with anticancer properties. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 3 (1).
- Silva, T., Reto, M., Sol, M., Peito, A., Peres, C. M., Peres, C. and Malcata, F. X. 2011. Characterization of yeasts from Portuguese brined olives, with a focus on their potentially probiotic behavior. *LWT - Food Science and Technology*, 44 (6), 1349-1354.
- Simova, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, T., Frengova, G. and Spasov, Z. 2002. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28 (1), 1-6.
- Sindi, A., Badsha, M. B. and Ünlü, G. 2020. Bacterial Populations in International Artisanal Kefirs. *Microorganisms*, 8 (9).
- Singh, A. K. and Ramesh, A. 2009. Evaluation of a facile method of template DNA preparation for PCR-based detection and typing of lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 26 (5), 504-513.
- Slattery, C., Cotter, P. D. and O'toole, P. W. 2019. Analysis of Health Benefits Conferred by *Lactobacillus* Species from Kefir. *Nutrients*, 11 (6).
- Somashekaraiah, R., Shruthi, B., Deepthi, B. V. and Sreenivasa, M. Y. 2019. Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated From Neera: A Naturally Fermenting Coconut Palm Nectar. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1382.
- Soyuçok, A., Ekiz, T. and Başıyigit Kiliç, G. 2016. Ekzopolisakkaritlerin Özellikleri ve Gıda Sanayindeki Önemi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5, 332-344.
- Speck, M. 1984. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, American Puplic Healt Association., Washington, DC.
- St-Onge, M. P., Farnworth, E. R., Savard, T., Chabot, D., Mafu, A. and Jones, P. J. 2002. Kefir consumption does not alter plasma lipid levels or cholesterol fractional synthesis rates

- relative to milk in hyperlipidemic men: a randomized controlled trial [ISRCTN10820810]. BMC Complementary Medicine and Therapies, 2 (1).
- Staniszewski, A. and Kordowska-Wiater, M. 2021. Probiotic and Potentially Probiotic Yeasts—Characteristics and Food Application. Foods, 10.
- Sumby, P., Barbian, K. D., Gardner, D. J., Whitney, A. R., Welty, D. M., Long, R. D., Bailey, J. R., Parnell, M. J., Hoe, N. P., Adams, G. G., Deleo, F. R. and Musser, J. M. 2005. Extracellular deoxyribonuclease made by group A *Streptococcus* assists pathogenesis by enhancing evasion of the innate immune response. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102 (5), 1679-84.
- Syal, P. and Vohra, A. 2013. Probiotic Potential of Yeasts Isolated from Traditional Indian Fermented Foods. International journal of Microbiology Research, 5, 390-398.
- Şen, İ. 2015. Kefir Kültürü Kullanılarak Üretilen Fermente Süt Ürünlerinin Aroma Aktif Bileşenlerinin ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi. Y.Lisans Tezi, Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Talebi, S., Makhdoumi, A., Bahreini, M., Matin, M. M. and Moradi, H. S. 2018. Three novel *Bacillus* strains from a traditional lacto-fermented pickle as potential probiotics. Journal of Applied Microbiology, 125 (3), 888-896.
- Tamai, Y., Yoshimitsu, N., Watanabe, Y., Kuwabara, Y. and Nagai, S. 1996. Effects of milk fermented by culturing with various lactic acid bacteria and a yeast on serum cholesterol level in rats. Journal of Fermentation and Bioengineering, 81 (2), 181-182.
- Temmerman, R., Pot, B., Huys, G. and Swings, J. 2003. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. International Journal of Food Microbiology, 81 (1), 1-10.
- Teruya, K., Yamashita, M., Tominaga, R., Nagira, T., Shim, S. Y., Katakura, Y., Tokumaru, S., Tokumaru, K., Barnes, D. and Shirahata, S. 2002. Fermented milk, Kefram-Kefir enhances glucose uptake into insulin-responsive muscle cells. Cytotechnology, 40 (1-3), 107-116.
- Thoreux, K. and Schmucker, D. L. 2001. Kefir Milk Enhances Intestinal Immunity in Young but Not Old Rats. The Journal of Nutrition, 131 (3), 807-812.
- Toğay, S. O., Keskin, A. C., Açık, L. and Temiz, A. 2010. Virulence genes, antibiotic resistance and plasmid profiles of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from naturally fermented Turkish foods. Journal of Applied Microbiology, 109 (3), 1084-92.
- Tomar, O. 2015. Farklı Yağ Oranlarına Sahip İnek ve Manda Sütleri Kullanılarak İki Ayrı Üretim Metoduyla Üretilen Kefir Örneklerinin Depolama Süresince Bazı Kalite Karakteristiklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Tomar, O., Akarca, G., Çağlar, A., Beykaya, M. and Gök, V. 2020. The effects of kefir grain and starter culture on kefir produced from cow and buffalo milk during storage periods. Food Science and Technology, 40, 238-244.
- Tomar, O., Çağlar, A. and Akarca, G. 2017. Kefir ve Sağlık Açısından Önemi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 17, 834-853.
- Tournas, V., Stack, M., Mislivec, P., Koch, H. and Bandler, R. 1998. Yeasts, molds and mycotoxins, Bacteriological Analytical Manual (BAM). Food and Drug Administration, Gaithersburg, MD, USA, 227-234.

- Toushik, S. H., Kim, K., Ashrafudoulla, M., Mizan, M. F. R., Roy, P. K., Nahar, S., Kim, Y. and Ha, S.-D. 2021. Korean kimchi-derived lactic acid bacteria inhibit foodborne pathogenic biofilm growth on seafood and food processing surface materials. *Food Control*, 129, 108276.
- Trindade, D. P. D. A., Barbosa, J. P., Martins, E. M. F. and Tette, P. a. S. 2022. Isolation and identification of lactic acid bacteria in fruit processing residues from the Brazilian Cerrado and its probiotic potential. *Food Bioscience*, 48, 101739.
- Tripathi, N. and Sapra, A. 2022. *Gram Staining*, StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Tuo, Y., Yu, H., Ai, L., Wu, Z., Guo, B. and Chen, W. 2013. Aggregation and adhesion properties of 22 *Lactobacillus* strains. *Journal of Dairy Science*, 96 (7), 4252-4257.
- Ulusoy, B. H. 2007. Kefir Kültürü ile Fermente Sucuk Üretimi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul.
- Vankerckhoven, V., Van Autgaerden, T., Vael, C., Lammens, C., Chapelle, S., Rossi, R., Jabes, D. and Goossens, H. 2004. Development of a multiplex PCR for the detection of *asa1*, *gelE*, *cylA*, *esp*, and *hyl* genes in enterococci and survey for virulence determinants among European hospital isolates of *Enterococcus faecium*. *Journal of Clinical Microbiology*, 42 (10), 4473-4479.
- Vinderola, C. G., Duarte, J., Thangavel, D., Perdígón, G., Farnworth, E. and Matar, C. 2005. Immunomodulating capacity of kefir. *Journal of Dairy Research*, 72 (2), 195-202.
- Vinderola, C. G. and Reinheimer, J. A. 2003. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*, 36 (9), 895-904.
- Walsh, A. M., Crispie, F., Kilcawley, K., O'sullivan, O., O'sullivan, M. G., Claesson, M. J. and Cotter, P. D. 2016. Microbial Succession and Flavor Production in the Fermented Dairy Beverage Kefir. *mSystems*, 1 (5).
- Walsh, L. H., Coakley, M., Walsh, A. M., Crispie, F., O'toole, P. W. and Cotter, P. D. 2023. Analysis of the milk kefir pan-metagenome reveals four community types, core species, and associated metabolic pathways. *iScience*, 26 (10), 108004.
- Wang, K., Zhang, H., Feng, J., Ma, L., Fuente-Núñez, C. D. L., Wang, S. and Lu, X. 2019. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dairy products in Tianjin, China. *Journal of Agriculture and Food Research*, 1, 100006.
- Wang, L., Deng, K. and Zhang, Y. 2022. Isolation and screening of high-quality lactic acid bacteria and yeast strains in kefir grains and preparation of kefir compound fermentation starter. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46 (11), e17073.
- Wang, S.-Y., Chen, K.-N., Lo, Y.-M., Chiang, M.-L., Chen, H.-C., Liu, J.-R. and Chen, M.-J. 2012. Investigation of microorganisms involved in biosynthesis of the kefir grain. *Food Microbiology*, 32 (2), 274-285.
- Wang, X., Xiao, J., Jia, Y., Pan, Y. and Wang, Y. 2018. *Lactobacillus kefiranoferiens*, the sole dominant and stable bacterial species, exhibits distinct morphotypes upon colonization in Tibetan kefir grains. *Heliyon*, 4 (6), e00649.
- Wang, Y., Xu, N., Xi, A., Ahmed, Z., Zhang, B. and Bai, X. 2009. Effects of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high-cholesterol diet. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84 (2), 341-347.

- Witthuhn, R., Schoeman, T. and Britz, T. 2005a. Characterisation of the microbial population at different stages of Kefir production and Kefir grain mass cultivation. *International Dairy Journal*, 15 (4), 383-389.
- Witthuhn, R., Schoeman, T., Cilliers, A. and Britz, T. 2005b. Impact of preservation and different packaging conditions on the microbial community and activity of Kefir grains. *Food Microbiology*, 22 (4), 337-344.
- Witthuhn, R. C., Schoeman, T. and Britz, T. J. 2004. Isolation and characterization of the microbial population of different South African kefir grains. *International Journal of Dairy Technology*, 57 (1), 33-37.
- Wszolek, M., Tamime, A. Y., Muir, D. D. and Barclay, M. N. I. 2001. Properties of Kefir made in Scotland and Poland using Bovine, Caprine and Ovine Milk with Different Starter Cultures. *LWT - Food Science and Technology*, 34 (4), 251-261.
- Wulansarie, R. and Fahmiati, S. 2022. Health benefit of kefir. *AIP Conference Proceedings*, 2573 (1), 020012.
- Xiao, R., Liu, M., Tian, Q., Hui, M., Shi, X. and Hou, X. 2023. Physical and chemical properties, structural characterization and nutritional analysis of kefir yoghurt. *Frontiers in Microbiology*, 13.
- Yalçın, N. F. and Işık, M. K. 2017. Kefir; Ürün Özellikleri ve İnsan Sağlığına Etkisi. *Adıyaman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3 (1), 439-452.
- Yegin, Z., Yurt, M. N. Z., Tasbasi, B. B., Acar, E. E., Altunbas, O., Ucak, S., Ozalp, V. C. and Sudagidan, M. 2022. Determination of bacterial community structure of Turkish kefir beverages via metagenomic approach. *International Dairy Journal*, 129, 105337.
- Yerlikaya, O. 2019. Probiotic potential and biochemical and technological properties of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* strains isolated from raw milk and kefir grains. *Journal of Dairy Science*, 102 (1), 124-134.
- Yetiman, A. E. and Kesmen, Z. 2015. Identification of acetic acid bacteria in traditionally produced vinegar and mother of vinegar by using different molecular techniques. *International Journal of Food Microbiology*, 204, 9-16.
- Yildiz-Akgul, F., Yetişemiyen, A., Şenel, E. and Yıldırım, Z. 2018. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir produced by secondary fermentation. *Mljekarstvo*, 68 (3), 201-213.
- Yilmaz, B., Sharma, H., Melekoglu, E. and Ozogul, F. 2022. Recent developments in dairy kefir-derived lactic acid bacteria and their health benefits. *Food Bioscience*, 46, 101592.
- Yilmaz, L., Özcan Yilsay, T. and Akpınar Bayazit, A. 2006. The sensory characteristics of berry-flavoured kefir. *Czech Journal of Food Sciences*, 24 (1), 26-32.
- Yüksekdağ, Z. N., Beyath, Y. and Aslım, B. 2004. Metabolic activities of *Lactobacillus* spp. strains isolated from kefir. *Food / Nahrung*, 48 (3), 218-220.
- Yüksekdağ, Z., Beyatlı, Y. and Aslım, B. 2004. Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefirs with natural probiotic. *LWT - Food Science and Technology*, 37 (6), 663-667.
- Yüksekdağ, Z. N. and Beyatlı, Y. 2003. Kefir mikroflorası ile laktik asit bakterilerinin metabolik, antimikrobiyal ve genetik özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1 (2), 49-69.
- Zacconi, C., Scolari, G., Vescovo, M. and Sarra, P. G. 2003. Competitive exclusion of *Campylobacter jejuni* by kefir fermented milk. *Annals of Microbiology*, 53, 179-187.

- Zajšek, K., Kolar, M. and Goršek, A. 2011. Characterisation of the exopolysaccharide kefiran produced by lactic acid bacteria entrapped within natural kefir grains. *International Journal of Dairy Technology*, 64 (4), 544-548.
- Zamanpour, S., Rezvani, R., Jafarzadeh Isfahani, A. and Afshari, A. 2023. Isolation and some basic characteristics of lactic acid bacteria from beetroot (*Beta vulgaris* L.) —A preliminary study. *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal*, 6 (1), 42-56.
- Zanirati, D. F., Abatemarco, M., Sandes, S. H. D. C., Nicoli, J. R., Nunes, Á. C. and Neumann, E. 2015. Selection of lactic acid bacteria from Brazilian kefir grains for potential use as starter or probiotic cultures. *Anaerobe*, 32, 70-76.
- Zarzecka, U., Zadernowska, A. and Chajęcka-Wierzchowska, W. 2022. Effects of osmotic and high pressure stress on expression of virulence factors among *Enterococcus* spp. isolated from food of animal origin. *Food Microbiology*, 102, 103900.
- Zheng, Y., Lu, Y., Wang, J., Yang, L., Pan, C. and Huang, Y. 2013. Probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from Tibetan kefir grains. *PLoS One*, 8 (7), e69868.
- Zhou, N., Zhang, J. X., Fan, M. T., Wang, J., Guo, G. and Wei, X. Y. 2012. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Chinese yogurts. *Journal of Dairy Science*, 95 (9), 4775-4783.
- Zourari, A. and Anifantakis, E. M. 1988. Le kéfir. Caractères physico-chimiques, microbiologiques et nutritionnels. Technologie de production. Une revue. *Le Lait*, 68 (4), 373-392.

EKLER

EK-1. Duyusal Analiz için Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
ZİRAAT FAKÜLTESİ BİRİM ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KARAR FORMU ONAY BELGESİ

KARAR BİLGİLERİ	Oturum Sayısı: 2023/1 Karar No: 2023/16	Toplantı Tarihi: 27.11.2023
	Aşağıda bilgileri verilen proje ile ilgili çalışmanın, etik ilkeler açısından değerlendirilmesi isteği ile ilgili husus görüşüldü. Yapılan görüşmelerden sonra; araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak konuyla ilgili çalışmanın gerçekleştirilmesinde <u>bilim etiği yönünden sakınca bulunmadığına</u>, Etik Kurul oy birliği ile karar vermiştir.	
PROJE BİLGİLERİ	Proje Yürütücüsü: Prof. Bülent ÇETİN, (doktora öğrencisi Burcu BAZU ÇIRPICI) Proje Konusu: "Kefir Mikrobiyotasının Belirlenmesi ve Elde Edilecek Suşlarla Üretilen Kefirlerin Bazı Kalite Parametrelerinin Tespiti"	
ZİRAAT FAKÜLTESİ BİRİM ETİK KURULU		
Unvanı / Adı Soyadı	Görevi	İmza
Prof. Dr. Önder ÇALMAŞUR	Başkan	(e-imza)
Prof. Dr. Muhlis MACİT	Üye	(e-imza)
Prof. Dr. İhsan BAKIRCI	Üye	(e-imza)
Prof. Dr. Ali ÖZTÜRK	Üye	(e-imza)
Prof. Dr. Müdahir ÖZGÜL	Üye	(e-imza)



EK-2. Çalışma Kapsamında Üretilen Kefir Örneklerinin Depolama Boyunca Bazı Analiz Özellikleri Arasındaki Korelasyon

Kore. Para.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	1																				
2	-0,153	1																			
3	0,048	,673**	1																		
4	0,369	-,730**	-,452*	1																	
5	-0,386	,732**	0,404	-,778**	1																
6	-,474*	0,007	-0,326	-0,088	0,085	1															
7	0,284	-0,322	-0,160	,455*	-,503*	-0,248	1														
8	0,016	-0,127	-0,195	0,181	-0,372	0,276	0,347	1													
9	-0,112	-0,262	-0,261	-0,112	-0,227	0,085	0,323	,989**	1												
10	-,438*	,521**	,455*	-,756**	,591**	-0,076	-0,175	0,056	0,391	1											
11	-0,368	0,304	0,154	-0,335	0,142	-0,072	-0,038	0,039	0,060	,445*	1										
12	-0,299	0,169	-0,244	-0,260	0,173	,563**	-,444*	-0,027	-0,030	0,026	,314**	1									
13	-0,269	,486*	0,047	-,614**	,435*	-0,074	-,438*	-0,042	-0,041	,461*	,462**	,436**	1								
14	-0,306	,542**	0,001	-,645**	,600**	-0,031	-,463*	0,031	0,036	,438*	,519**	,485**	,842**	1							
15	-0,188	,626**	0,350	-,673**	,554**	-0,283	-0,256	0,040	0,056	,607**	,597**	,219**	,541**	,648**	1						
16	-0,144	0,399	-0,019	-0,299	0,277	0,380	-,425*	-0,089	-0,085	0,071	,343**	,465**	,443**	,469**	,466**	1					
17	0,023	,433*	0,186	-,646**	0,392	-,407*	-0,117	0,005	-0,008	,512*	,323**	,274**	,563**	,549**	,387**	,310**	1				
18	-0,111	-0,167	-0,332	-0,064	-0,234	0,313	0,255	0,012	0,013	0,092	,219**	,266**	,246**	,317**	,164**	,163**	,294**	1			
19	0,005	,425*	0,240	-,566**	0,293	-,504*	-0,006	0,031	0,009	,528**	,187**	0,090	,309**	,380**	,308**	,154**	,416**	,238**	1		
20	0,025	,517**	,621**	-0,303	0,399	0,036	-0,294	0,010	-0,014	0,287	0,043	0,038	,172**	,210**	,156**	0,081	0,067	-,130*	,305**	1	
21	-0,198	,475*	-0,007	-,625**	,530**	-0,165	-0,383	-0,032	-0,027	,406*	,431**	,462**	,740**	,790**	,490**	,398**	,578**	,388**	,325**	,125*	1
Ort	2,53	8,33	8,58	4,49	0,78	50,05	9,19	2185,49	1158,95	19936,56	6,56	6,93	6,56	6,48	6,82	7,27	7,67	6,52	8,04	7,41	6,82
Ss	2,28	0,53	0,31	0,17	0,04	5,50	1,05	656,88	334,02	9728,54	1,76	1,28	1,64	1,73	1,64	1,20	1,44	2,01	1,31	1,64	1,45

* önemli (p<0,05), ** çok önemli (p<0,01)

1: Maya sayısı 2: Laktik basil sayısı, 3: Laktik kok sayısı, 4: pH, 5: % asitlik, 6: Su tutma kapasitesi, 7: Serum ayrılması 8: Viskozite (20 rpm), 9: Viskozite (50 rpm), 10: Kıvam katsayısı, 11: Kremamsı/sütlü Tat, 12: Asitlik/ekşilik Tat, 13: Lezzet, 14: Ağızda bıraktığı his, 15: Kremamsı/sütlü Koku, 16: Asitlik/ekşilik Koku, 17: Renk ve görünüş, 18: Viskozite, 19: Serum ayrılması, 20: Köpürme, 21: Genel kabul edilebilirlik, Kore. Para.: Korelasyon Parametreleri, Ort: Ortalama, Ss: Standart sapma

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Burcu BAZU ÇIRPICI
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Kemal Hasoğlu Lisesi
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
Yüksek lisans:	London Metropolitan University (2016)
Doktora:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Tezden Üretilmiş Yayınlar	