

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

**GELENEKSEL OLARAK FERMENTE EDİLMİŞ
GİLABURU (*VIBURNUM OPULUS* L.) MEYVESİNİN
SUYUNDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN ENDÜSTRİYEL GİLABURU SUYU
ÜRETİMİNDE KULLANIM OLANAKLARI**

**Tezi Hazırlayan
Nurdan YAPAR**

**Tezi Yöneten
Yrd. Doç. Dr. Osman SAĞDIÇ**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Temmuz 2008
KAYSERİ**

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

**GELENEKSEL OLARAK FERMENTE EDİLMİŞ
GİLABURU (*VIBURNUM OPULUS* L.) MEYVESİNİN
SUYUNDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN ENDÜSTRİYEL GİLABURU SUYU
ÜRETİMİNDE KULLANIM OLANAKLARI**

**Tezi Hazırlayan
Nurdan YAPAR**

**Tezi Yöneten
Yrd. Doç. Dr. Osman SAĞDIÇ**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından FBT-07-84 kodu ile desteklenmiştir.**

**Temmuz 2008
KAYSERİ**

Yrd. Doç. Dr. Osman SAĞDIÇ danışmanlığında **Nurdan YAPAR** tarafından hazırlanan “**Geleneksel Olarak Fermente Edilmiş Gilaburu (*Viburnum opulus L.*) Meyvesinin Suyundan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Endüstriyel Gilaburu Suyu Üretiminde Kullanım Olanakları**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

29 / 07 / 2008

JÜRİ:


Başkan: Prof. Dr. Hasan YETİM

Üye : Doç. Dr. Mehmet HAYTA

Üye : Yrd. Doç. Dr. Osman SAĞDIÇ

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulunun 29/08/2008 tarih ve 2008/27-10 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


29 / 08 / 2008
N. Ayyıldız
Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Öncelikle bu tez konusunu bana veren ve çalışmalarım sırasında değerli bilgi ve yardımlarıyla bana yön veren danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Osman SAĞDIÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans programında derslerini alarak çok yararlı bilgiler edindiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Hasan YETİM'e, Doç. Dr. Ahmed KAYACIER'e, Doç. Dr. Sibel SİLİCİ'ye, Yrd. Doç. Dr. Zülal KESMEN'e ve Yrd. Doç. Dr. Kemal SARIOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Çalışma sürecinde analiz, metot, malzeme konusundaki tüm sorularıma cevap veren ve yardımcı olan Arş. Gör. Lütfiye EKİCİ'ye, Arş. Gör. İsmet ÖZTÜRK'e ve istatistik çalışmalarını yapan Mehtap CANKURTARAN'a çok teşekkür ederim.

Çalışmalarında kullandığım gilaburu numunelerinin büyük bölümünün teminini yaptığım Gülsan Gıda San. ve Tic. A.Ş.'nin Yönetim Kurulu Başkanı Bekir GÜLDÜOĞLU'na, İşletme Müdürü Selma YAZGAN'a ve tüm şirket personeline ilgi ve yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

Bana güven vererek ve motive ederek yüksek lisans öğrenimine başlamama vesile olan Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Kayseri İl Kontrol Laboratuvarı eski Kurum Müdürüm İbrahim SÖNMEZ'e ve tamamlama sürecindeki katkılarından dolayı şu anki Kurum Müdürüm İlhan BİNGÖL'e çok teşekkür ederim. Ayrıca, moral kaynağım ve desteğim olan yakın arkadaşım Derya ÇETİN'e, her an yardıma hazır olduklarını bana hissettiren ve istediğimde zevkle bunu yapan arkadaşlarım Meltem KONUŞKAN'a, Nurtaç ÇINAR'a ve adlarını burada sayamayacağım diğer değerli tüm mesai arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Son olarak, hayatımdaki en özel insanlara, özel teşekkürlerimi ifade etmek istiyorum: Her zaman olduğu gibi bu tezin oluşma döneminde de anlayışlı, şefkatli, sevgi dolu tavrıyla bana manevi güç veren annem Semiha YAPAR'a ve şu an yanımda olmasa da üzerimde tartışılmaz etkisi ve emeği olan ve yaptığım her iyi şeyde payı bulunan rahmetli babam Mustafa YAPAR'a minnettarlığımı belirterek sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**GELENEKSEL OLARAK FERMENTE EDİLMİŞ GİLABURU (*VIBURNUM
OPULUS L.*) MEYVESİNİN SUYUNDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN ENDÜSTRİYEL GİLABURU SUYU ÜRETİMİNDE
KULLANIM OLANAKLARI**

Nurdan YAPAR

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2008

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Osman SAĞDIÇ

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, geleneksel olarak fermente edilen gilaburu (*Viburnum opulus L.*) meyvesinin suyundan izole edilen laktik asit bakterilerinin (LAB), endüstriyel standart fermente gilaburu suyu üretiminde kullanım olanaklarını araştırmak ve bu bakterilerin gilaburu suyunun bazı fizikokimyasal ve duyuşsal özelliklerine etkisini saptamaktır.

Çalışmada, Kayseri ve civarındaki 9 farklı bölgeden gilaburu meyveleri temin edilmiş ve meyveler 4 ay süreyle geleneksel yöntemle fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyon sonunda mikrobiyolojik analizlere alınan numunelerde, LAB izole edilmiş ve hem klasik tanımlama yöntemleri, hem de API 50 CHL karbonhidrat fermentasyon test kitleri kullanılarak tanımlanmıştır. Çalışmada 6 farklı türde toplam 21 adet izolat elde edilmiş olup bu izolatların %47.62 ile büyük çoğunluğunu *Lactobacillus (Lb.) plantarum* oluşturmuştur. Diğer izolatlar ve toplam izolatlar içindeki oranları ise sırasıyla şöyledir: *Lb. brevis*, %19.05; *Lb. buchneri*, %9.52; *Lb. paracasei* ssp. *paracasei*, %9.52; *Pediococcus* spp. %9.52 ve *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii* %4.76.

Araştırmanın son aşamasında, araştırmada elde edilen 21 izolattın, probiyotik ve teknolojik özelliklerini belirlemeye yönelik antibakteriyel aktiviteleri, asit ve hidrojen sülfür üretme yetenekleri test edilmiştir. Yapılan testler sonucu seçilen izolatlardan 7 farklı kültür ya da kültür kombinasyonu belirlenmiş, bunlar laboratuvar şartlarında ticari pastörize gilaburu suyuna inoküle edilerek standart fermente meyve suyu üretim denemeleri yapılmış ve üretim süreci sonunda 10 gün süreyle buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir. Deneme meyve suyu numunelerinde soğukta muhafaza sonrası canlı logaritmik LAB sayıları 6.39 ± 0.03 ile 7.65 ± 0.01 kob/ml arasında tespit edilmiştir.

Ayrıca, laboratuvar şartlarında üretilen 7 numune, ticari pastörize meyve suyu ve daha önce geleneksel fermente meyve suları arasında yapılan duyusal analizde en fazla puan alan numune dahil toplam 9 meyve suyu numunesinin kullanıldığı duyusal panel gerçekleştirilmiştir. Panel sonuçlarına göre, genel beğeni olarak en yüksek puanı *Lb. plantarum* izolatu içeren test numunesi almıştır ve bunu *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* ve *Lb. brevis* izolatu içeren test numuneleri izlemiştir.

Ayrıca, üç aşamalı olarak yürütülen çalışmanın her aşamasında tüm numunelerde (taze gilaburu suyu, geleneksel fermente gilaburu suyu, ticari pastörize gilaburu nektarı ile laboratuvar şartlarında üretilen test numunelerinde) çözünür katı madde (briks), pH, asitlik, indirgen şeker, protein, kül, ham selüloz, yağ, etil alkol, askorbik asit ve toplam fenolik miktarı analizleri yapılmıştır.

Bu çalışma ile LAB kültür veya kültürleri kullanılarak standart kalitede, fermente ve probiyotik özelliklere sahip gilaburu suyu üretmenin mümkün olduğu ve bu araştırma ışığında söz konusu ürün grubunun geliştirilmesi ve endüstriyel çapta üretimin başlatılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gilaburu, *Viburnum opulus* L., laktik asit bakterileri, fermentasyon, probiyotik.

**THE POSSIBILITY OF USING LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM
TRADITIONALLY FERMENTED EUROPEAN CRANBERRYBUSH
(*VIBURNUM OPULUS* L.) JUICE IN THE MANUFACTURE OF INDUSTRIAL
FRUIT JUICE**

Nurdan YAPAR

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M. Sc. Thesis, July 2008

Thesis Supervisor: Assist. Prof. Dr. Osman SAGDIC

ABSTRACT

The objectives of this research were to investigate the possibility of using lactic acid bacteria (LAB) isolated from traditionally fermented European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) juice in the manufacture of industrial fruit juice and to determine the effects of these bacteria on some of the physicochemical and sensory properties of fruit juice.

In the study, European cranberrybush fruits were supplied from 9 different regions of Kayseri and its surroundings and they were allowed to fermentation for 4 months by traditional method. After fermentation, LAB were isolated and identified by both classical microbiological methods and API 50 CHL carbohydrate fermentation test kits. In this study, total 21 bacteria belong to 6 different LAB species were isolated. Identification of the isolates revealed that 47.62% of these bacteria were *Lactobacillus* (*Lb.*) *plantarum*, 19.05% *Lb. brevis*, 9.52% *Lb. buchneri*, 9.52% *Lb. paracasei* ssp. *paracasei*, 9.52% *Pediococcus* spp. and 4.76% *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii*.

In the final step of the study, antibacterial activity, ability of acid and hydrogen sulphure production of the isolates were examined with the purpose of the determination of their probiotic and technological properties. Then, 7 different cultures or culture combinations were selected according to the results of tests and they were inoculated to pasteurized European cranberrybush nectar at the laboratory conditions to produce standard fermented fruit. After the production, samples were kept under the refrigeration for 10 days and logarithmic counts of the viable LAB were determined between 6.39 ± 0.03 and 7.65 ± 0.01 cfu/ml. Meanwhile, total 9 samples including 7 test

fruit juice samples, commercial fruit juice and traditional fermented fruit juice sample that had the highest sensory score were subjected to sensory analysis. The result of this analysis showed that *Lb. plantarum* containing sample had the highest point in terms of general acceptance and then followed by the samples containing *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* and *Lb. brevis* isolates.

Furthermore, at the each step of the research which had three phase; soluble solid material (brix), pH, acidity, invert sugar, protein, ash, crude fiber, oil, ethanol, ascorbic acid and total phenolic contents analysis were conducted at the samples fresh fruit juice, naturally fermented fruit juice, commercial pasteurized fruit juice and test fruit juice samples that are produced in laboratory conditions with LAB isolates.

The results of this study indicated that production of fermented European cranberrybush juice with standard quality and probiotic properties could be possible. And, it is concluded that the product quality could be improved and started to industrial manufacturing in the view of acquired information of this research.

Keywords: European cranberrybush, *Viburnum opulus* L., lactic acid bacteria, fermentation, probiotic.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
1. BÖLÜM	1
GİRİŞ	1
2. BÖLÜM	3
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Gilaburu (<i>Viburnum opulus L.</i>).....	3
2.2. Laktik Asit Bakterileri.....	7
2.2.1. Laktik Asit Bakterileri ve Fermentasyon Prosesindeki Rollerini.....	8
2.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Fonksiyonel Özellikleri ve Sağlık Üzerindeki Etkileri.....	8
2.2.3. Laktik Asit Bakterilerinin Gıdalarda Kullanılma Potansiyelleri.....	12
3. BÖLÜM	18
MATERYAL VE YÖNTEMLER	18
3.1. Materyal	18
3.2. Gilaburu Numunelerinin Hazırlanması	19
3.3. Yöntemler.....	20
3.3.1. Gilaburu Suyu Numunelerinde Yapılan Fizikokimyasal Analizler	20
3.3.1.1. Çözünür Katı Madde (Briks) Tayini	21
3.3.1.2. pH Tayini	21
3.3.1.3. Asitlik Tayini	20
3.3.1.4. İndirgen Şeker Miktarı Tayini.....	21
3.3.1.5. Protein Tayini.....	22
3.3.1.6. Kül Miktarı Tayini	22
3.3.1.7. Ham Selüloz Tayini	23
3.3.1.8. Yağ Tayini.....	23
3.3.1.9. Etil Alkol Tayini	24
3.3.1.10. Askorbik Asit Tayini.....	24

3.3.1.11. Toplam Fenolik Madde Tayini	25
3.3.2. Gilaburu Numunelerinde Yapılan Mikrobiyolojik Analizler.....	25
3.3.2.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı	25
3.3.2.2. Koliform ve <i>E. coli</i> Sayımı	26
3.3.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> Sayımı.....	26
3.3.2.4. <i>Bacillus cereus</i> Sayımı	26
3.3.2.5. Küf ve Maya Sayımı	26
3.3.3. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu	26
3.3.4. LAB İzolatlarının Tanımlanması	27
3.3.4.1. Kolonilerin Morfolojik Özelliklerinin İncelenmesi	27
3.3.4.2. Gram Reaksiyonlarının Belirlenmesi	27
3.3.4.3. Bakterilerin Mikroskopik Görünümlerinin İncelenmesi	28
3.3.4.4. Katalaz Reaksiyonlarının Belirlenmesi.....	28
3.3.4.5. API 50 CHL Sistemi İle Tanımlama.....	28
3.3.4.6. Glikozdan Gaz Üretme Testi.....	28
3.3.4.7. Arjininden Amonyak Oluşturma Testi.....	29
3.3.4.8. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme Testi.....	29
3.3.4.9. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Üreme Testi.....	30
3.3.5. Tanımlanan LAB İzolatlarına Uygulanan Testler.....	30
3.3.5.1. İzolatların Antibakteriyel Aktivitelerinin Test Edilmesi	30
3.3.5.2. İzolatların Asit Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi.....	30
3.3.5.3. İzolatların Hidrojen Sülfür Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi	31
3.3.6. İzolatların Kullanılarak Laboratuvar Şartlarında Fermente Gilaburu Suyu Üretme Çalışması	31
3.3.7. Duyusal Analizler.....	31
3.3.8. İstatistiksel Analizler.....	32
4. BÖLÜM	33
BULGULAR	33
4.1. Numunelerde Yapılan Fizikokimyasal Analiz Çalışmaları.....	33
4.2. Numunelerde Yapılan Mikrobiyolojik Analiz Çalışmaları.....	38
4.2.1. Numunelerin Mikrobiyolojik Özellikleri	38
4.2.2. Numunelerden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu	38
4.3. İzolat Seçimi İçin Yapılan Çalışmalar	51

4.3.1. İzolatların Antibakteriyel Aktivitelerinin Test Edilmesi.....	51
4.3.2. İzolatların Asit Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi.....	53
4.3.3. İzolatların Hidrojen Sülfür Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi	54
4.4. Fermente Gilaburu Suyu Üretmek Üzere İzolatların Seçimi	54
4.5. Seçilen İzolatlar Kullanılarak Fermente Gilaburu Suyu Üretme Denemeleri	55
4.6. Duyusal Analizler.....	56
5. BÖLÜM	59
SONUÇ VE YORUM	59
KAYNAKLAR	68
EKLER.....	76
EK-1 Fizikokimyasal Çalışmalara Ait Ham Veriler	76
EK-2 Mikrobiyolojik Çalışmalara Ait Ham Veriler	87
EK-3 İzolatların API CHL İle Tanımlanmasına Ait Bilgisayar Çıktıları	90
ÖZGEÇMİŞ	96

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.1.	Birinci ve İkinci Aşamada Kullanılan Numunelerin Kaynağı ve Kodları .	18
Tablo 4.1.	Taze Gilaburu Suyu Numunelerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri	34
Tablo 4.2.	Geleneksel Yöntemle Fermente Edilen Gilaburu Suyu Numunelerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri	35
Tablo 4.3.	Taze ve Geleneksel Fermente Numunelerin Fizikokimyasal Özelliklerinin Karşılaştırılması	36
Tablo 4.4.	Laboratuvar Şartlarında İzolatlarla Üretilen Gilaburu Suyu Numunelerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri.....	37
Tablo 4.5.	Geleneksel Yöntemle Fermente Edilen Gilaburu Numunelerinin Mikrobiyolojik Özellikleri	40
Tablo 4.6.	Geleneksel Yöntemle Fermente Edilen Gilaburu Numunelerinde MRS ve M17 Besiyerindeki Koloni Sayım Sonuçları	40
Tablo 4.7.	Geleneksel Yöntemle Fermente Edilen Gilaburu Numunelerinden Elde Edilen LAB İzolatlarının Özellikleri.....	41
Tablo 4.8.	LAB İzole Edilen Numune Bazında İzolasyon Çalışmasının Ayrıntıları ..	45
Tablo 4.9.	İzolatların Dağılımı	45
Tablo 4.10.	İzolatların Antibakteriyel Aktivite Test Sonuçları.....	52
Tablo 4.11.	İzolatların Asit Üretme Yetenekleri Test Sonuçları.....	54
Tablo 4.12.	Buzdolabı Şartlarında 10 Gün Muhafaza Edilen Test Numunelerindeki LAB Yükleri	56

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Gilaburu (<i>Viburnum opulus</i> L.) Meyvesi	4
Şekil 3.1.	Çalışmada İzlenen Yol	20
Şekil 3.2.	Duyusal Analiz Formu Örneği	32
Şekil 4.1.	MRS Besiyerinde <i>Lb. plantarum</i> Kolonileri	46
Şekil 4.2.	MRS Besiyerinde <i>Lb. brevis</i> Kolonileri	46
Şekil 4.3.	MRS Besiyerinde <i>Lb. buchneri</i> Kolonileri	46
Şekil 4.4.	MRS Besiyerinde <i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> Kolonileri	47
Şekil 4.5.	MRS Besiyerinde <i>Pediococcus</i> spp. Kolonileri	47
Şekil 4.6.	MRS Besiyerinde <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i> Kolonileri	47
Şekil 4.7.	API 50 CHL Testi Uygulanan İzolatın İnkübasyon Sonrasındaki Fotoğrafı (<i>Lb. plantarum</i> olarak tanımlanan izolata ait)	48
Şekil 4.8.	API 50 CHL Testi Uygulanan İzolatın İnkübasyon Sonrasındaki Fotoğrafı (<i>Lb. brevis</i> olarak tanımlanan izolata ait)	48
Şekil 4.9.	API 50 CHL Testi Uygulanan İzolatın İnkübasyon Sonrasındaki Fotoğrafı (<i>Lb. buchneri</i> olarak tanımlanan izolata ait)	49
Şekil 4.10.	API 50 CHL Testi Uygulanan İzolatın İnkübasyon Sonrasındaki Fotoğrafı (<i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> olarak tanımlanan izolata ait)	49
Şekil 4.11.	API 50 CHL Testi Uygulanan İzolatın İnkübasyon Sonrasındaki Fotoğrafı (<i>Pediococcus</i> spp. olarak tanımlanan izolata ait)	50
Şekil 4.12.	API 50 CHL Testi Uygulanan İzolatın İnkübasyon Sonrasındaki Fotoğrafı (<i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i> olarak tanımlanan izolata ait)	50
Şekil 4.13.	Geleneksel Fermente Gilaburu Suyunda Yapılan Birinci Duyusal Analiz Sonuçları	57
Şekil 4.14.	İzolatlarla Üretilen Gilaburu Sularında Yapılan İkinci Duyusal Analiz Sonuçları	58
Şekil 5.1.	Seçilen İzolatların Antibakteriyel Aktiviteleri	63
Şekil 5.2.	Seçilen İzolatların Asit Üretme Yetenekleri	64

1. BÖLÜM

GİRİŞ

Türkiye'nin çeşitli illerinde doğal olarak yetişen yabani bir meyve olan gilaburunun kullanımı, Kayseri, Sivas, Tokat ve Konya yöresi dahil bazı bölgelerde, meyvenin çeşme suyu içinde 3-5 ay süreyle fermentasyonu ardından ezilerek elde edilen suyunun içilmesi ile sınırlı olmakta, bazı yörelerde ise sadece halk ilacı şeklinde kısıtlı bir şekilde kullanılmakta ya da tüketilmeden bitki üzerinde kalmaktadır. Yetiştirildiği bölgelerde gilaburu meyvesinin böbrek, karaciğer, safra, rahim, mide ve bağırsak rahatsızlıklarına karşı iyi geldiğine, tansiyon düzenleyici olduğuna, kalp damar hastalıklarını iyileştirici etkileri bulunduğu dair bilimsel çalışmalarla desteklenmemiş yaygın bir inanış bulunmaktadır. Ancak, bu yararların meyvenin sadece kimyasal özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmekte, meyvenin fermentasyonu sırasında görev alan fermentasyon mikroflorasının yararları hiç hesaba katılmamaktadır. Üstelik bu meyve ve özellikleri ile ilgili az sayıda araştırma yapılmış olup, taze meyve ile fermente meyvenin özelliklerini karşılaştıran, fermente meyvelerde fermentasyon etmeni mikroorganizmaları belirleyerek tanımlayan ve biyolojik yararlılığını kanıtlayan çalışmalar bulunmamaktadır.

Beslenme ve sağlık arasındaki ilişkinin bilimsel kanıtlarının her geçen gün artması sonucu, gıda konusunda çalışan araştırmacılara ve sektördeki sanayicilere sağlığa yararlı ürün çeşitliliğini arttırmak konusunda büyük sorumluluklar yüklenmektedir. Fermente ürünler, probiyotik ve prebiyotik özellikteki gıdalar, tüketimleri sağlıklı en fazla ilişkilendirilen "fonksiyonel gıda" kapsamına dahil ürün gruplarıdır.

Bu çalışmanın amacı, şu an sadece geleneksel olarak sınırlı bir bölgede ve evlerde hazırlanıp tüketilen fermente gilaburu suyunda, fermentasyon etmeni laktik asit bakterilerini izole etmek ve tanımlamak, taze ve fermente üründeki fizikokimyasal özellikleri tespit ederek karşılaştırmak, tanımlanan laktik asit bakterilerini pastörize

gilaburu suyuna inoküle ederek endüstriyel çapta standart fermente gilaburu suyu üretme olanaklarını ortaya koymaktır. Böylece, gıda sektöründe muhtemel “probiyotik özelliklere sahip laktik asit bakterisi içeren meyve bazlı içecek” olarak nitelenebilecek yeni ve fonksiyonel bir ürün kategorisi oluşacak, geleneksel bir ürün gıda sanayine kazandırılarak tüketimi yaygınlaştırılacak ve ayrıca gilaburu yetişen bölgeler için ekonomik bir katma değer sağlanmış olacaktır. Dolayısıyla, araştırma bulgularının hem gilaburu yetişen bölgeler için, hem meyve suyu üreticileri için, hem de sağlıklı bir içecek alternatifi arayan tüketiciler için bir değer oluşturması ve bu kapsamda yapılacak yeni araştırmalara yön vermesi beklenmektedir.

2. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

2.1. Gilaburu (*Viburnum opulus* L.)

Gilaburu (*Viburnum opulus* L.), Adoxaceae familyasına ait, kökeni Avrupa, Kuzey Afrika ve Kuzey Asya'ya dayanan, dünyanın hemen her yanında dekoratif amaçlı olarak kullanılan bir çalı bitkisinin meyvesidir (Şekil 2.1). Dünyada European cranberrybush, American cranberrybush, cranberry tree, guelder rose, wild guelder rose, gueldres-rose, cherry-wood, rose elder, snowball bush, crampbark tree ve whitten tree gibi alternatif isimlerle, Türkiye'de ise bölgeden bölgeye değişen gilaburu, gilaboru, gileboru, gileburu, girabolu, girebolu ve gili gili gibi adlarla anılmaktadır. Gilaburu, Türkiye'de başta Kayseri olmak üzere, Konya, Bursa, Sakarya, Ankara, Tokat, Sivas, Trabzon, Çorum, Maraş, Kırşehir, İstanbul, İzmir, Erzurum ve Samsun illerinde doğal olarak yetişmektedir. 10-12 yaşında olan bir ağacın yüksekliği yaklaşık 350 cm, gövde uzunluğu 81 cm, gövde kalınlığı ise 26 cm'dir. Koyu yeşil renkli olan yapraklar, sonbaharda kızıla dönmektedir. Çiçek şekli birleşik semsiye olup her bir çiçek durumu 5-10 cm çapındadır ve 25-30 meyveli bir meyve salkımı oluşturmaktadır. Önceleri yeşil olan meyveler, olgunlaşmadan bir ay kadar önce açık sarı bir renk almakta, olgunlaştıklarında ise parlak kırmızı olmaktadır [1-3].

Genellikle, sulak yerlerde ve su kenarlarında yetişen gilaburu bitkisinin kabuk ve meyveleri, farmakolojide geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Kabuklarının güçlü antispazmodik etkisi, menstrüal ve mide krampları ile astıma karşı iyileştirici özelliği, Avrupa, Amerika ve Asya insanı tarafından ayrı ayrı keşfedilmiştir. Türkiye'de de gilaburu meyvesinin farmakolojik ve besinsel özellikleri hakkında pek çok inanış olmakla beraber, bu konularda yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır [1, 3].



Şekil 2.1. Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Meyvesi

Konya’da gilaburu ağacını morfolojik, fenolojik ve pomolojik yönlerden inceleyen Bolat ve Özcan [4], bu ağacın meyvelerini beş ay süre ile su içinde muhafaza etmişler ve bu sürecin başında, ortasında ve sonunda gilaburu sularının kimyasal bileşimlerini (pH, asitlik, çözünür katı madde, indirgen şeker, su, protein, kül, ham selüloz, ham yağ ve askorbik asit) ve mineral element (kalsiyum, magnezyum, demir, bakır, çinko, fosfor, sodyum, potasyum) miktarlarını analiz etmişlerdir. Çalışma sürecinde pH 3.24, 3.09, 3.20; asitlik 1.57, 1.46, 1.59; yüzde çözünür kuru madde 7.81, 6.97, 6.86; yüzde indirgen şeker 5.83, 4.43, 3.97; askorbik asit 560, 380 ve 362 mg/kg olarak kaydedilmiştir. Çalışmada, üç döneme ait numunelerde de en yüksek mineral, potasyum olarak tespit edilmiştir.

Kayseri’de çeşitli bölgelerden toplanan gilaburu meyvelerini üç ay süreyle geleneksel olarak olgunlaştırdıktan sonra meyve suyunda kimyasal analizler yapan Soylak ve ark. [5], 2600-4200 μ siemens/cm arası iletkenlik, 2.8-3.1 arası pH, 308-661 mg/l arası askorbik asit, 181.6-902.9 mg/l arası tannik asit tespit etmişler, ayrıca numunelerdeki majör iyon (kalsiyum, potasyum, magnezyum, sodyum ve klorür) miktarları ile iz metal (bakır, demir, kobalt ve kurşun) konsantrasyonlarını da belirlemişlerdir.

Sağdıç ve ark. [6], yaptıkları çalışmada, gilaburunun kurutulmuş meyve ekstraktının antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerini tanımlamışlardır. Bu çalışmada, %2, 5, 10 ve 15’lik konsantrasyonlardaki kurutulmuş gilaburu meyve ekstraktının patojen ve bozulma etmeni toplam 10 bakteriye (*Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*) karşı

antibakteriyel aktivitesi test edilmiş ve %10 ile %15'lik konsantrasyonların test edilen bakterileri inhibe ettiği görülmüştür. Ayrıca, gram ekstraktın toplam fenolik içeriğinin 131.99 ± 2.11 mg gallik aside eşdeğer olduğu ve antioksidan aktivitesinin 315.50 ± 8.2 mg olduğu bulunmuş ve doğal bir antioksidan olarak kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır.

Rusya'da gıda endüstrisinin atık bir ürünü olan gilaburu çekirdeklerinden metil ve triterpenil yağ-asidi esterlerinin ve triterpenik asitlerin izole edildiği bir çalışmada [7], çekirdek pigmentlerinin antioksidan aktivitesine ek olarak, protein içeriği ve biyolojik değeri tanımlanmıştır. Gilaburu çekirdek tozunun alkali ekstraktının %28-29'unun protein olduğu ve 7'si esansiyel olmak üzere 15 amino asit kompozisyonundan oluştuğunun tespit edildiği araştırma, gilaburu çekirdeklerinin, lipit, pigment ve protein gibi biyolojik olarak aktif bileşenler yönünden değerli bir kaynak olduğunu ortaya koymuştur.

Sibirya'ya özgü florayı temsil eden biyoantioksidanların tarandığı bir çalışmada [8], %30 ve %70 etanol kullanılarak elde edilen gilaburu ağacı kabuğu ekstraktının antioksidan aktivite katsayısı tanımlanmış ve maksimum antioksidan aktiviteyi %70'lik etanolun kullanıldığı ekstraktın gösterdiğine dikkat çekilmiştir.

Gilaburu meyvesinin suyundaki burukluğu gidermek amacıyla yaptıkları çalışmada Velioğlu ve ark. [9], fenolik bileşenleri hem toplam hem de ayrı ayrı tespit etmişlerdir. Ayrıca meyve suyunun 2.0-3.0 g/l aktif karbonla muamele edilmesinin, toplam fenoliklerin %20-30 azalması suretiyle istenmeyen tat ve kokunun uzaklaşmasına sebep olacağını göstermişlerdir.

Gilaburu suyunun organik asit ve fenolik bileşiklerinin yüksek basınç sıvı kromatografisi ile çalışıldığı çalışmada [10], litrede 9.422 ± 0.032 g L-malik asit, 0.573 ± 0.070 g okzalik asit, 0.095 ± 0.010 g tartarik asit, 0.736 ± 0.030 g L-askorbik asit tespit edilmiştir. Ayrıca, klorojenik asit, p-hidroksibenzoik asit, mirisetin, kafeik asit ve p-pumarik asit bileşikleri sırasıyla 798.81 ± 6.49 , 92.10 ± 0.059 , 35.97 ± 0.64 , 26.22 ± 0.05 , 3.38 ± 0.04 mg/l olarak bulunmuştur.

Başka bir çalışmada [11] ise, gilaburu meyvesinin hem etinde, hem çekirdeğinde başlıca organik asitler, antioksidan kapasite, toplam fenolik, toplam flavonoid ve toplam antosiyanin içerikleri tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, meyve etindeki toplam

asitlerin %86'sını malik asitin oluşturduğu, meyve çekirdeğindeki toplam asitlerin %68'ini ise okzalik asitin oluşturduğu, meyve çekirdeğinin meyve etinin yaklaşık 4 katı daha fazla toplam fenolik madde içerdiği ve yaklaşık 10 katı daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca, meyve etinde ve çekirdeğinde sırasıyla pH 2.95, 5.19; mg/100 g numunede toplam titre edilebilir asitlik malik asit cinsinden 1712.85, okzalik asit cinsinden 194.59; nem 89.16, 9.31; kuru maddede yağ 1.92, 13.88; kül 0.38, 1.68 olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca, Türkiye'de yetişen gilaburu meyvesinin bazı teknik özelliklerinin (boyut, geometrik ortalama çap, küresellik, birim hacim ağırlığı, meyve yoğunluğu, hacim, ayrılış hızı, parçalanma mukavemeti, gözeneklilik) tespit edildiği çalışmada, mineral içerikleri de dahil bazı bileşen özellikleri analiz edilmiş ve 256.56 kJ/g enerji, 63.46 g/kg indirgen şeker, 64.85 mg/kg protein, 595.24 mg/kg askorbik asit, 3253.87 mg/kg toplam fenolik, 654.23 mg/kg toplam antosiyanin, 6.70 g/kg ham yağ, 180.71 g/kg ham selüloz, 12.83 g/kg kül ve 17.92 g/kg asitlik değerleri kaydedilmiştir [12].

Elmastaş ve Gerçekçioğlu [13], gilaburu, ahududu, mürver ve kuşburnu meyvelerinin etanol ekstraksiyonu ile elde edilen ham ekstraktlarında antioksidan aktivite, serbest radikal giderme aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi analizlerini yapmışlardır. Elde edilen sonuçlar, standart antioksidan olarak bilinen α -tokoferol, bütillenmiş hidroksi toluen ve bütillenmiş hidroksi anisol sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca, bu çalışmada kullanılan her bir üzüksü meyvenin toplam fenolik ve askorbik asit miktarları da ölçülmüştür. Sonuçlara göre, antioksidan aktivitesi (%79.3) en yüksek olan gilaburu meyvesinin, toplam fenolik bileşik miktarının (22.9 μ g gallik asite eşdeğer), serbest radikal giderme aktivitesinin (%78.2) ve metal şelatlama aktivitesinin (%84.2) de en yüksek olduğu görülmüştür.

Ukrayna'da bir halk ilacı olarak tanınan gilaburuda doğal olarak bulunan ve antibakteriyel, antiviral, antikanserojen, antienflamatuar, antialerjik ve kan damarlarının gelişmesinde etkili olduğu kanıtlanmış proantosiyanidin bileşikleri, fareler üzerinde denenmiştir. Gastroduodenal lezyonlu bölgeye uygulanan gilaburu proantosiyanidinleri, 25-75 mg/kg vücut ağırlığı arası değişen dozlarda farelere uygulanmış ve 50 mg/kg dozun, endojen nitrik oksit oluşumunu artırmak, lipid peroksidasyonunu baskılamak, antioksidan aktiviteyi harekete geçirmek suretiyle güçlü bir gastroduodenal koruyucu

aktivite oluşturduğu ve su emme ve tutma basıncının neden olduğu gastroduodenal hasarı engelleyici etkiler sergilediği sonucuna varılmıştır [14].

2.2. Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri (LAB), Gram-pozitif, hareketsiz ve sporsuz bir grup bakteriyi içine almaktadır. LAB, kok ya da çubuk olarak bulunurlar ve çok nadir sahte katalaz reaksiyon vermekle birlikte genellikle katalaz enzimini içermezler ve nitratı redükte etmezler. Diğer organizmalardan heksozları laktik aside fermente edebilme yetenekleri ile ayrılırlar. Glikozu fermente etmek üzere kullandıkları metabolik yola göre homofermentatif ve heterofermentatif olmak üzere 2 ana grup altında toplanırlar. Homofermentatif organizmalar, 1 mol metabolize glikoz başına 2 mol ATP açığa çıkararak glikozu 2 mol laktik aside fermente ederler. Laktik asit, bu fermentasyondaki majör üründür. Heterofermentatif organizmalar ise, 1 mol glikozu, 1 mol ATP açığa çıkararak 1 mol laktik aside, 1 mol etanole ve 1 mol karbondioksite fermente ederler [15, 16].

Orla-Jensen (1919)'a göre LAB, morfolojik ve fenotipik özellikleri esas alınarak 7 cins (*Betabacterium*, *Thermobacterium*, *Streptobacterium*, *Streptococcus*, *Betacoccus*, *Microbacterium* ve *Tetracoccus*) altında toplanmıştır. Daha sonra, Bergey's Manual (1986)'de *Streptococcus* cinsi, *Enterococcus*, *Lactococcus* ve *Vagococcus* cinslerine ayrılarak yeni sınıflandırma yapılmıştır. Gıdalarda önemli LAB, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* cinsleri içine dahil edilmiştir. LAB için yapılan en genel gruplandırma ise, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus* cinsleri yer almıştır. Önceleri *Lactobacillus bifidus* olarak refere edilen organizma, şeker fermentasyonlarındaki ayırım dikkate alınarak 1960'larda LAB grubuna ait *Bifidobacterium* cinsi içinde değerlendirilmiştir [17].

LAB'nin çoğu, insan, hayvan ve bitki gibi doğal ortamlardan izole edilebilirler. Besin değeri yüksek, karbonhidrat içeren maddelerde bulunan *Lactobacillus* cinsleri, insan ve hayvanların mukozal membranları (ağız boşluğu, bağırsak ve vajina) gibi çeşitli doğal ortamların yanında, bitkilerde veya bitki orijinli materyallerde, gübrede ve atık su gibi insan yapımı kaynaklarda ve fermente veya bozulmuş gıdalarda bulunurlar. *Streptococcus* cinsine ait türler de, insanlardan, hayvanlardan, kuşlardan ve bitkilerden

izole edilirler. *Leuconostoc* türleri, genellikle süt ürünlerinden ve sebzelerden izole edilebilirler. *Pediococcus* cinsi türleri ise, çoğunlukla bitkilerde ve ayrıca doğal fermentasyona uğramış bitkisel ve hayvansal birçok üründe bulunurlar [16].

2.2.1. Laktik Asit Bakterileri ve Fermentasyon Prosesindeki Roller

LAB kavramı, 19. yüzyılın ikinci yarısında bilimsel ve teknik gelişmelerin öncülüğünde önem kazanmış ve 1900'lerin başında gelişmiştir. Öncelikle LAB'nin gıdalarla karşılıklı etkileşimi bilim adamlarının dikkatini çekmiş ve 1857'de Pasteur tarafından fermentasyon etmeninin tanımlanması, laktik asit fermentasyonuna önemli bir katkı sağlamıştır. Bunu 1873'de Lister'in ilk kez saf bakteri kültürü izole etmesi izlemiştir. Peynir ve ekşi süt üretmek amacıyla starter kültürlerin kullanımı, Kiel'de Weigmann ve Kopenhag'da Storch tarafından 1890'da hemen hemen eş zamanlı başlatılmıştır. Bu olaylar, gıda fermentasyonlarının endüstriyelmesi için önemli bir yol açmıştır [17].

LAB ile fermente gıdalar, çok eski zamanlardan bu yana gıda hammaddelerinin korunmasında oynadığı temel rol ve insan gıdaları ile hayvan yemlerinin besinsel, duyuşsal ve sağlık özelliklerine sağladığı katkı nedeniyle endüstride geniş bir kullanım alanı bulmuştur [18]. Fermentasyon, soğutma ya da diğer koruma teknolojileri gerektirmeden gıdaların raf ömrünü uzatan dünyadaki en eski gıda muhafaza yöntemlerinden biridir [19]. LAB, gıda fermentasyon proseslerinin çoğunda önemli bir rol oynar ve geniş bir suş çeşidi, süt, et, sebze ve fırıncılık ürünlerinde starter kültür olarak rutin bir şekilde görev alır [20]. Bunlar, başta laktik asit olmak üzere organik asitler üreterek hammaddenin hızla asitleşmesine sebep olurlar. Ayrıca, asetik asit, etanol, aroma bileşikleri, bakteriyosinler, ekzopolisakkaritler ve bazı enzimler de üretirler. Böylece, ürünün raf ömrünü ve mikrobiyel güvenilirliğini artırmakla kalmaz, tekstürü geliştirerek son ürünün duyuşsal profiline de olumlu katkı sağlarlar [21].

2.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Fonksiyonel Özellikleri ve Sağlık Üzerindeki Etkileri

Bugün LAB, çeşitli antimikrobiyel bileşikler üretme, antitümör aktivite gösterme, serum kolesterolünü düşürme, laktoz intoleransını azaltma, bağışıklık sistemini uyarma, bağırsak mikroflorasını stabilize etme gibi probiyotik özellikleri destekleyen

fonksiyonlarından dolayı, endüstriyel kullanım yanında yoğun uluslar arası araştırmaların da odağındadır [22].

Probiyotikler, esas olarak laktik asit bakterileridir ve probiyotik bir ürün, bu mikroorganizmalardan birini veya birkaçını içerebilir [23]. Probiyotik kelimesi, ilk olarak 1954 yılında Ferdinand Vergin tarafından antibiyotik ve flora üzerindeki diğer antimikrobiyel maddelerin patojen olmayan bakterilerin yararlı etkileriyle ilişkisinin anlatıldığı “Anti- und Probiotika” isimli makalede kullanılmıştır [24]. “Probiyotik” kelimesi Yunanca “yaşam için” olan anlamına gelmektedir ve 1965 yılında Lilly ve Stillwell tarafından, bir protozoanın sentezlediği ve bir diğer protozoanın gelişimini teşvik eden bir maddeyi tanımlamak için kullanılmıştır. Ardından, mikroorganizma gelişimini teşvik eden bir doku ekstraktının tanımlanmasında da aynı terim kullanılmıştır [25].

Probiyotiklerin olumlu etkilerine ait ilk bilimsel teoriler, 1900’lü yılların başında ünlü immünolog ve mikrobiyolog Elie Metchnikoff tarafından ortaya atılmıştır. Metchnikoff, fermente süt ürünleri tüketimi yolu ile bağırsak mikroflorasının olumsuz etkilerinin engellenebileceğini ve ilgili kişilerin yaşam sürelerinin artabileceğini belirtmiştir [26, 27]. Bugün kullanıldığı anlamı ile probiyotiklerin tanımı ise, ilk kez 1974 yılında Parker tarafından kullanılmıştır. Dr. R. Fuller ve Dr. C.B. Cole, probiyotikleri, “bağırsaklarda mikrobiyel dengeyi olumlu yönde artırıcı etkileri olan canlı besin kaynağı” olarak tanımlamışlardır [28]. 1989 yılında Fuller, probiyotikleri “konakçının bağırsak mikroflorasının gelişimini teşvik eden canlı mikrobiyel katkı maddeleri” olarak yeniden tanımlamıştır. Bu tanımda güçlü bir probiyotik etki için canlı hücre varlığının önemi özellikle vurgulanmaktadır. Huis in’t Veld ve Havenaar, bu tanımları genişletmişler ve probiyotik ürünlerin canlı mikroorganizma içermesi gerektiğini ve tüketilmeleri sonucunda ağızda, gastrointestinal kanallarda, üst solunum kanallarında ya da ürogenital kanallarda yararlı etkiler yapmak yolu ile konakçının sağlığında iyileşmeye neden olduklarını ifade etmişlerdir. Bu araştırmacılar probiyotikleri insan ya da hayvan tarafından alınan canlı tek ya da karışım mikroorganizma kültürleri olarak tanımlamışlardır [25].

İnsan bağırsağı, bağırsak sisteminde yaşayan ve çeşitli fizyolojik fonksiyonları destekleyen çok sayıda mikroorganizma tarafından koloni halinde kuşatılmıştır.

Bağırsağın aşamalı mikrobiyel kolonizasyonu doğumda başlar ve her bir birey için farklı olan bir bağırsak mikroflorası oluşturmak üzere, yaşamın erken dönemi boyunca devam eder [29]. Bir insanın bağırsak sisteminde 500'den fazla farklı bakteri türü bulunur ve bunların çoğu faydalı bir göreve sahiptir. İnsanlar yaşlandıkça, bağırsak sistemindeki yararlı mikroorganizma sayısı azalır ve potansiyel olarak patojen mikroorganizma varlığı artar. İnsan diyetine probiyotik bakterilerin dahil edilmesinin amacı, bu prosesi tersine çevirmek veya yavaşlatmak ve dışkı boşaltımı yoluyla kaybedilen organizmaları yeniden kazandırmaktır [30].

Probiyotik bakterilerin, sağlık yararı sağlama amaçlı kullanımlar için belli kriterlere sahip olması gerekir. Gastrointestinal sistem boyunca canlı kalmaları, gastrik asitlik, pankreatik enzimler ve safra tuzlarından etkilenmeksizin ince bağırsağın alt yarısına ve kolona ulaşabilmeleri ve bağırsak mukozasında kolonize olabilmeleri, bu kriterlerden en önemlileridir. Konu ile ilgili araştırma yapan bilim adamları, bu bakterilerin mukus katmana yapışmasının, ilk kolonizasyon ve daha sonra yaygınlaşma için bir ön koşul olduğunu ve bağırsak mukusu yüzeyinde LAB için bağlanma yetenekleri bulunabildiğini düşünmektedir [31, 32].

Lactobacillus (Lb). plantarum'un gastrointestinal sistemde canlılığını ve fekal floradaki etkisini araştıran bir çalışmada [31], 32 sağlıklı gönüllüye 3 hafta süreyle 40 mg/gün olarak pantoprazol ya da plasebo verilmiştir. Buna ek olarak, 3. haftadan 4. haftaya kadar her iki grubun da günde iki defa yulaf ezmesi fermente bir içecek içinde *Lb. plantarum* (10^9 kob/ml) alması sağlanmıştır. Her bir gönüllüden 1, 2, 4 ve 8 hafta sonunda fekal numuneler alınmış, aerobik ve anaerobik olarak gelişen bakteriler sayılmış ve kısa zincirli yağ asiti konsantrasyonları belirlenmiştir. Hem pantoprazole hem plasebo alan grupta yapılan testler, *Lb. plantarum*'un gastrik asitliğe rağmen gastrointestinal sistem yolunda canlı kalabildiğini ve bakteriyel kompozisyonu ya da kısa zincirli yağ asitleri üretimini değiştirmedeğini göstermiştir.

Lb. brevis, *Lb. acidophilus*, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* ve *Bifidobacterium (B.) animalis* suşları kullanılarak üretilen peynir altı suyu peynirinde suşların gastrointestinal sistem şartlarındaki canlılıkları, peynir modelinin temsili gastrik özsuya (düşük pH ve pepsin ilaveli ortama) ve safra tuzlarına maruz bırakılması ile test edilmiştir [33].

Sonuçta, bütün suşların ilk canlı hücre sayılarını koruduğu, *Lb. brevis* ve *B. animalis* suşlarının safra tuzuna karşı en yüksek direnci sergilediği ortaya konmuştur.

LAB'nin tutunma mekanizmalarını inceleyen bir çalışmada da [32], yüksek tutunma gösteren LAB suşları seçilmiş ve yüzey tabaka proteinleri analiz edilmiştir. *Lb. brevis*'den elde edilen yüzey tabaka proteinlerinin, insan antijenine çok güçlü bir bağa sahip olduğu görülmüş ve probiyotik LAB'nin, bağırsak mukozasında bağırsak kolonizasyonuna yardım edebildiği gösterilmiştir.

Probiyotiklerin, antibiyotik bağlantılı diyare ve diğer benzeri hastalıkların önlenmesi ve tedavisi, genitoüriner sistem enfeksiyonlarından korunma, immün fonksiyonunun artırılması, üst deri iltihabı ve besin alerjisi dahil çeşitli immün hastalıklarını kapsayan özel durumlarda kullanımının yararlı olduğuna dair çeşitli çalışmalar mevcuttur. Berman ve ark. [34], yaşları 24 ile 54 arasında değişen 5 erkek 5 kadın sağlıklı gönüllü üzerinde bir pilot çalışma yürütmüşlerdir. Bu çalışmada, doğuştan veya spesifik olmayan bağışıklığın üç parametresi (monositlerin ve nötrofillerin fagositik aktivitesi, doğal öldürücü hücre aktivitesi ve salya ifrazi immünoglobulin A seviyesi) üzerine dört tür besinsel probiyotik katkının (*Lb. rhamnosus*, *Lb. plantarum*, *Lb. salivarius* ve *B. bifidum* türlerini eşit miktarda içeren tabletlerin) etkisi incelenmiştir. Gönüllüler, 8 hafta süreyle her sabah 3 tablet almak üzere eğitilmişlerdir. Çalışmada incelenen immün parametreleri, sürecin başlangıcında, 3. 5. ve 8. hafta sonunda ölçülmüştür. Sonuçta, uygulama dönemi boyunca monositlerin ve nötrofillerin fagositozlaşma yüzdesinin belirgin olarak arttığı, ancak doğal öldürücü hücre aktivitesinde ve salya ifrazi immünoglobulin A seviyesinde istatistiksel olarak belirgin bir artış olmadığı gözlenmiştir.

Probiyotik bakterilerin, immün düzenleyici ve bağışıklığı baskılayıcı ajanlar tarafından zarar gören immün fonksiyonunu geliştirici etkilerini ortaya koymak üzere yürütülen başka bir çalışmada ise [35], 4 deneysel grup tasarlanmıştır: Hiçbir işleme tabi tutulmamış kontrol grubu fareler, *Lb. plantarum* verilen fareler, kemik iliğine zarar veren bir ajan olan cyclophosphamide ile muamele görmüş fareler ve cyclophosphamide ile muamele görmüş ve *Lb. plantarum* verilen fareler. Sonuçta, *Lb. plantarum*'un potansiyel olarak probiyotik bakterilerin seçimi için *in vitro* kriterleri (düşük pH ve safraya direnç, epitelyal hücrelere yapışma ve antimikrobiyel aktivite) yerine getirmekle

beraber, mide içine sonda ile beslenme sonrasında gastrointestinal sistemde daimi bir kolonizasyon meydana getiremediği ancak, *Lb. plantarum*'un verilmesinin, lipopolisakkaritlere yanıt olarak cyclophosphamide ile muamele görmüş farelerdeki dalak hücrelerinin hızla çoğalmasımı kısmen düzelttiği kanıtlanmıştır.

İltihaplı bağırsak hastalıklarında LAB'nin etkisini değerlendirmek için, bağırsak mikroflorasından ve ticari probiyotiklerden izole edilen *Lb. plantarum* ve *Lb. brevis*'in inhibitör etkisini tespit eden çalışmada [36], deneysel olarak kolite maruz bırakılan fareler kullanılmıştır. Sonuçta, LAB'nin oral alımının, nitrik oksit üretimini inhibe ederek, hasta bağırsak mukozasındaki sitokin salgısını düzenlediği ve koliti iyileştirdiği görülmüştür.

Lb. plantarum'un kolesterol düşürücü aktiviteye sahip etkin bir probiyotik olabileceği kanıtlanan çalışmada [37] ise, yeni doğmuş bebeklere ait fekal numunelerden izole edilen *Lb. plantarum*, 14 gün süreyle her gün 10^7 kob/fare olacak şekilde hiperkolesterollü farelere verilmiştir. Sonuçta, kontrol grubu ile kıyaslandığında *Lb. plantarum* ile beslenen grupta serum kolesterol ve trigliseridler, sırasıyla %7 ve %10 oranında düşmüştür. Ayrıca, vücut ağırlığı, iç organlarla ilgili ağırlık indeksi veya bakteri translokasyonunda iki grup arasında herhangi bir önemli fark gözlenmezken, fekal LAB'nin arttığı tespit edilmiştir.

Aynı konuda *in vivo* yürütülen bir çalışmada [38], 10 erkek, 10 kadın sağlıklı gönüllünün 5 hafta süreyle 50 g/gün *Lb. paracasei* ilave edilmiş probiyotik sucuk alması sağlanmış ve gönüllülerin kan numunelerinde toplam kolesterol, HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) ve LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) kolesterol, trigliserit ve bazı immünolojik parametreler analiz edilmiş ve geleneksel sucuk alan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Gönüllülerin çoğunun fekal numunelerinde *Lb. paracasei* sayısı önemli bir artış göstermiş, serum kolesterol düzeyleri etkilenmemekle birlikte, LDL okside eden antikorların konsantrasyonu belirgin bir şekilde artmış ve test edilen immünolojik parametreler olumlu yönde değişmiştir.

2.2.3. Laktik Asit Bakterilerinin Gıdalarda Kullanılma Potansiyelleri

LAB, ABD Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından “genellikle güvenilir olarak tanınan” anlamında GRAS ve gıda düzeyinde mikroorganizmalar olarak kabul edilmektedir.

Tarihte et ve süt ürünlerini muhafaza etmek ve fermente sebzelerde biyokoruma amaçlı kullanılmışlardır. LAB'nin gıda kaynaklı patojenlerin ve çok çeşitli bozulma etmeni mikroorganizmaların üreme ve aktivitesini engellemekteki başarısı farklı mekanizmaların birleşiminden kaynaklanabilmektedir. Bu aktivite için öngörülen mekanizmalar arasında, organik asitlerin, bakteriyosinlerin ve hidrojen peroksit ve diasetil gibi diğer düşük molekül ağırlığına sahip bileşiklerin üretimi, literatürde en yaygın atıfta bulunulanlardır [39].

LAB'nin antimikrobiyel etkilerini ortaya koyan çok sayıda çalışma mevcuttur. Seçilen bazı LAB suşlarının (*Lb. plantarum*, *Lb. collinoides*, *Lb. buchnerii*, *Lb. brevis*, *Lb. sakei* ssp. *sakei*, *Lb. delbrueckii* ssp. *lactis*, *Pediococcus (P.) dextrinicus* ve *P. parvulus*, *Leuconostoc (Leu.) mesenteroides* ssp. *mesenteroides*, *Lactococcus (L.) lactis* ssp. *lactis*) berele elma ve marul yaprak kesikleri üzerinde gelişimi ve etkinliği, patojen test bakterilerine karşı incelenmiştir [39]. Suşlar, materyaller üzerinde gelişmiş ve elma ya da marul dokularının genel görünümünü olumsuz yönde etkilememiştir. Elma bereleri ya da marul kesiklerinin antogonistik suşlarla muamele edilmesi, *Listeria monocytogenes*'in gelişimini tamamen inhibe ederken *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* hücre sayılarını, bere ya da gram başına 1-2 log kob arasında düşürmüştür.

Yaygın olarak gıdaların bozulmasına sebep olan küflerin gelişimini inhibe etmek için LAB'nin potansiyel olarak değerlendirilmesini amaçlayan bir çalışmada [40], agar difüzyon metodu kullanılarak 17 LAB suşunun kültür süpernatantları antifungal aktivite yönünden incelenmiştir. Sonuçlara göre, *Lb. acidophilus*, *Lb. amylovorus*, *Lb. brevis*, *Lb. coryniformis* ve *Lb. plantarum* türlerine ait 13 suş, en güçlü antifungal aktiviteyi göstermiştir.

Afrika ülkelerinde yulaf lapası içeren geleneksel bir fermente üründen izole edilen LAB, bakteriyosin üretimleri açısından taranmış ve *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* ve *Salmonella enterica* suşlarına karşı antimikrobiyel spektrumları çıkarılmıştır [20]. Sonuçta 99 izolattan 30'unun test edilen bakteri suşlarından en az birine karşı antimikrobiyel madde ürettiği ve bunların arasından

seçilen ve *Lb. plantarum* olarak tanımlanan 6 izolatın yüksek sayıda plantarisin gen varlığı taşıdığı tanımlanmıştır.

Çiftlik hayvanlarından, mandıra ve insan kaynaklarından izole edilen *Lb. rhamnosus*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Lb. jensenii*, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. reuteri*, *P. acidilactici*, *P. cerevisiae*, *P. pentosaceus*, *B. thermophilum*, *B. boum*, *B. suis* ve *B. animalis* dahil LAB, çiğ hamburger etinden izole edilen Shiga-toxin üreten *E. coli* (STEC)'nin alt öldürücü konsantrasyonu ile birlikte inkübe edilmiştir. RNA ekstraksiyonu ve cDNA sentezi ardından, STEC'i oluşturan Shiga-toxin 1 (Stx1) ve Shiga-toxin 2 (Stx2)'den insan hastalık komplikasyonlarıyla sıklıkla ilişkilendirilen Stx2A seviyeleri test edilmiştir. Test edilen tüm probiyotik suşların kontrol kültürüne kıyasla STEC virülans geni üzerine etkili olduğu ve Stx2A seviyesini düşürdüğü gözlenmiştir [41].

Doğal olarak fermente edilmiş iki tip kuru sucuktan izole edilen 147 LAB, probiyotik özellikler ve antimikrobiyel aktivite açısından karakterize edilmiştir. Tüm *Lb. sakei* suşları, *Lb. plantarum* ve *Lb. curvatus* suşlarının çoğunluğu, 3 *Listeria monocytogenes* suşuna karşı antilisterial aktivite göstermiştir. *Lb. sakei*, *Lb. plantarum* ve *Lb. curvatus* suşlarının sırasıyla %75, 50 ve 29'u iki *S. aureus* suşunu inhibe etmiştir. Bu sonuçlar, ısıtılma işlem görmeyen ürünlerin hijyenik kalitesi için seçilen suşların kullanılabilirliğini göstermiştir [42].

Lb. acidophilus, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *B. animalis* ve *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* suşlarını içeren peynir esaslı sosların probiyotik ürün olarak uygunluğu, bu organizmaların canlılıkları değerlendirilerek çalışılmıştır. Beş bakterinin ayrı ayrı ilave edildiği sekiz formülasyon, 10 hafta süreyle depolanarak incelenmiş ve bu süreçte *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* ve *Lb. rhamnosus*'un inoküle edildiği seviyede veya hafif artarak kaldığı gözlenmiş ve *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* içeren kombinasyonların probiyotik peynirli sos üretimi için uygun olduğu görülmüştür [43].

Probiyotik ve prebiyotik katkı içeren çikolatalı krema formülasyonu geliştirmeyi amaçlayan bir çalışmada [44], *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* suşu kullanılmıştır. 5°C'de 28 güne kadar depolanan üründe, suşun canlılığı, koliform, *E. coli*, küf ve maya yükü ile duyusal özellikler test edilmiştir. Prebiyotik ilavesinin suş canlılığını ve duyusal kaliteyi

engellemediği ve *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* suşunun deneme yapılan ürün için iyi bir probiyotik katkı olduğu sonucuna varılmıştır.

LAB, insan sağlığına yararlarından dolayı fermente sütler ve yoğurtlar gibi çeşitli süt- esaslı ürünlerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda süt esaslı olmayan ve LAB içeren ürün grupları oluşturma arayışı ve bunun sonucu yapılan araştırmalar artmıştır. Bu amaçla, probiyotik domates suyu üretimi için LAB'nin uygunluğunu tespit etmek amacıyla yapılan bir araştırma [45], dört LAB türü (*Lb. acidophilus*, *Lb. plantarum*, *Lb. casei* ve *Lb. delbrueckii*) ile yürütülmüştür. Domates suyu, 24 saatlik bir kültür ile inoküle edilmiş ve 30°C'de inkübe edilmiştir. Kontrollü şartlarda fermentasyon sürecinde pH, asitlik, şeker içeriği ve canlı hücre sayısındaki değişimler ölçülmüştür. LAB kültürleri, 72 saat fermentasyon sonunda pH'yı 4.1'e ve daha aşağıya düşürmüştür, asitlik %0.65 ve daha çok artmış ve canlı hücre sayıları yaklaşık $1.0-9.0 \times 10^9$ kob/ml'ye ulaşmıştır. Fermente domates suyundaki dört LAB'nin canlı hücre sayıları, 4°C'de 4 hafta soğuk depolama sonrasında 10^6-10^8 kob/ml arasında değişmiştir. Çalışma sonunda, yüksek asitliğe ve düşük pH'ya sahip fermente domates suyunda dört LAB'nin büyük oranda canlı kalabildiği ve endüstriyel üretim için uygun oldukları ortaya konmuştur.

Benzer bir çalışmada ise, kırmızı pancarlar, probiyotik pancar suyu üretimi için potansiyel bir substrat olarak değerlendirilmiştir [46]. Çalışma sürecinde, tüm laktik kültürlerin, hücre sentezi ve laktik asit üretimi için pancar suyunu hızlı bir şekilde kullanma kabiliyetinde olduğu bulunmuştur. Ancak, *Lb. acidophilus* ve *Lb. plantarum*, diğer kültürlerden daha büyük bir miktarda laktik asit üretmiş ve 30°C'de 48 saat fermentasyon sonunda fermente pancar suyunun pH'sını başlangıç 6.3 değerinden 4.5'in altına düşürmüştür. Ayrıca, fermente pancar suyundaki laktik kültürlerin, soğuk depolama sürecinde canlılıklarını aşamalı olarak kaybettikleri halde, 4°C'de 4 hafta soğuk depolamadan sonra *Lb. acidophilus* hariç LAB canlı hücre sayılarının 10^6-10^8 kob/ml arasında sabit kaldığı tespit edilmiştir.

Yoon ve ark. [47], bazı LAB türleri (*Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. delbrueckii*) kullanarak diyet lifler, mineraller, vitamin C ve özellikle fitokimyasallar yönünden zengin bir sebze olan lahanadan probiyotik sebze suyu üretme olanaklarını da araştırmışlardır. Araştırmada, lahanaya 24 saatlik kültür inoküle edilmiş ve

30°C’de inkübe edilmiştir. Kontrollü şartlar altındaki fermentasyon sürecinde pH, asitlik, şeker içeriği ve canlı hücre sayısındaki değişiklikler gözlenmiştir. 30°C’de 48 saat fermentasyon sonunda *Lb. plantarum*, *Lb. casei* ve *Lb. delbrueckii*, lahana suyunda iyi gelişmiş ve yaklaşık 10×10^8 kob/ml’ye ulaşmıştır. Ancak, *Lb. casei*, *Lb. plantarum* ve *Lb. delbrueckii*’den daha az miktarda titre edilebilir asitlik üretmiştir. 4°C’de 4 hafta soğuk depolamadan sonra *Lb. plantarum* ve *Lb. delbrueckii* canlı hücre sayıları 4.1×10^7 ve 4.5×10^5 olurken, *Lb. casei*, düşük pH ve yüksek asitlik şartlarına uzun süre dayanamamış, 2 hafta sonra tamamen canlılıklarını kaybetmiştir.

Karpuz suyunu probiyotikleştirme denemeleri ise, meyve suyu 63°C’de 30 dakika pastörize edildikten sonra 24 saatlik 4 LAB suşu (*Lb. casei*, *Lb. acidophilus*, *Lb. fermentum* ve *Lb. plantarum*) ayrı ayrı inoküle edilerek yapılmıştır [48]. Tüm suşlar, 37°C’de 48 saat inkübasyondan sonra canlılıklarını ve gelişmelerini korumuş ve 10^8 kob/ml hücre yoğunluğuna ulaşmıştır. Probiyotikleştirilen meyve sularına 24 saatlik *S. typhimurium* eklenmiş ve LAB hücrelerinin antimikrobiyel aktiviteleri, inhibisyon zonu çapları ölçülerek test edilmiştir. Tüm suşların *S. typhimurium*’un gelişimini inhibe ettiği ve 2-6 saat arasında tamamen yok ettiği tespit edilmiştir.

Arıcı ve Coşkun [49], Trakya bölgesinde yaygın olarak tüketilen ve üzümün yıkanıp preslendikten sonra tercihen tahta ya da plastik fıçılarda ve %0.2 ezilmiş ham hardal tohumları ve %0.1 benzoik asit eklendikten sonra oda sıcaklığında 5-10 gün fermentasyona bırakılması ile evlerde geleneksel olarak üretilen hardaliye ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada, Kırklareli’de farklı evlerden 26 adet olgunlaşmış hardaliye numunesi toplanmış ve ayrıca laboratuvar şartlarında da geleneksel yöntem kullanılarak hardaliye üretilmiştir. Numunelerde, çoğunluğu *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* ve *Lb. casei* ssp. *pseudopantarum* olmak üzere bir dizi *Lactobacillus* cinsi izole edilmiş, pH, renk (kırmızılık) analizleri ve toplam bakteri, LAB, maya ve küf sayımları yapılmıştır. Ayrıca fermentasyon sürecinde pH değerinin 3.86’dan 3.39’a düştüğü, toplam bakteri, LAB ve maya sayılarının başlangıçtaki 2.1×10^5 , 6.0×10^4 ve 1.2×10^5 kob/ml değerlerinden sırasıyla 1.3×10^2 , 1.2×10^3 ve 1.1×10^3 kob/ml’ye düştüğü tespit edilmiştir.

Aynı araştırmacılar başka bir çalışmada [50] da, geleneksel metodu modifiye etmişler ve pastörize üzüm suyuna starter kültür olarak *Lb. sanfrancisco*, *Lb. acetotolerans*, *Lb.*

pontis, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* ekleyerek hardaliye üretmişlerdir. Çalışma sonunda, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* içeren beyaz ya da siyah hardal tohumları kullanılan hardaliyenin minimum pH'ya ulaştığı ve starter kültür olarak eklenen LAB'nin ve hardal tohumlarının, toplam şeker içeriğini düşürmek için belirgin bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür. Ayrıca, 7 günlük fermentasyon periyodunda hardaliyedeki LAB sayısının beyaz hardal tohumlarıyla üretilenlerde 4.60, 4.69, 4.47 ve 4.79 log kob/ml'den sırasıyla 4.92, 4.94, 5.90 ve 6.83 log kob/ml'ye ulaşırken, siyah hardal tohumu kullanılan diğer numunelerde ise 4.25, 4.07, 4.07 ve 4.20 log kob/ml'den sırasıyla 6.60, 7.20, 6.54 ve 6.77 log kob/ml'ye ulaştığı tespit edilmiştir.

Probiyotik kültürlerin meyve suyu katkısı olarak uygunluğunu, asit toleransları ve teknolojik dayanıklılıklarına göre değerlendiren bir araştırmada [51], *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşlarının canlılığı, portakal suyu, ananas suyu ve kıvılcık suyunda gözlenmiştir. Sonuçlar, asit dirençleri konusunda probiyotik suşlar arasında büyük farklılıklar olduğunu göstermiştir. Test edilen suşların tamamı, portakal suyu ve ananas suyunda kıvılcık suyuna kıyasla daha uzun canlı kalmıştır. *Lb. casei*, *Lb. rhamnosus* ve *Lb. paracasei* portakal suyunda 10^7 kob/ml üzerinde, ananas suyunda 10^6 /ml üzerinde seviyelerde en az 12 hafta süreyle canlı kalarak en uzun dayanıklılığı göstermiştir. Termal ve termal olmayan proseslemeye probiyotik toleransı, pastörizasyondan önce portakal suyuna ekleme yapılabilirliğini tanımlamak için çalışılmıştır. Probiyotik kültürlerle desteklenmiş portakal suyu, 5 dakika 400 MPa yüksek basınç uygulamasına ek olarak 76°C'de 30 saniye, 90°C'de 1 dakika termal pastörizasyona maruz bırakılmıştır. Sonuçlar, hiçbir suşun 10^6 kob/ml seviyesinde standart bir meyve suyu üretme yeteneğinde olmadığını göstermiştir. Tüm çalışmanın neticesi, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei* ve *Lb. paracasei*'nin asidik ortama toleranslarından dolayı, meyve sularında fonksiyonel katkı olarak kullanmak için proses sonrası eklenmesi koşuluyla umut veren bir potansiyele sahip olduğuna dikkat çekmektedir.

3. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Materyal

Bu araştırma, üç aşamalı olarak yürütülmüştür. Birinci ve ikinci aşamada kullanılacak numuneler için, gilaburu meyvesinin hasat dönemi olan Ekim ve Kasım aylarında, Kayseri ve civarındaki 9 farklı bölgeden (Güneşli, Gesi, Bünyan, Yahyalı, Sarıoğlan, Develi, Yeni Çubuk, Akkaya ve Hisarcık) taze gilaburu meyveleri temin edilmiştir. Bu gilaburu numunelerinden bir kısmı, ilk aşama analizlerini yapmak üzere ayrıldıktan sonra, ikinci aşamadaki analizler için aynı numuneler, 4 ay süreyle geleneksel yöntemle fermentasyona bırakılmıştır. Araştırmanın bu iki aşamasında kullanılan numunelerin kaynağı ve aşamalar sürecinde numunelere verilen kodlar, Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Üçüncü aşamada ise, Kayseri’de Gülsan Gıda San. ve Tic. A.Ş.’ye ait meyve suyu fabrikasının steril meyve suyu hattında üretilerek cam şişelere dolum yapılan gilaburu nektarı kullanılmıştır.

Tablo 3.1. Birinci ve İkinci Aşamada Kullanılan Numunelerin Kaynağı ve Kodları

Numunelerin Kaynağı	Taze Numunelerin Kodu	Geleneksel Fermente
Güneşli	N1	G1
Gesi	N2	G2
Bünyan	N3	G3
Yahyalı	N4	G4
Sarıoğlan	N5	G5
Develi	N6	G6
Yeni Çubuk	N7	G7
Akkaya	N8	G8
Hisarcık	N9	G9

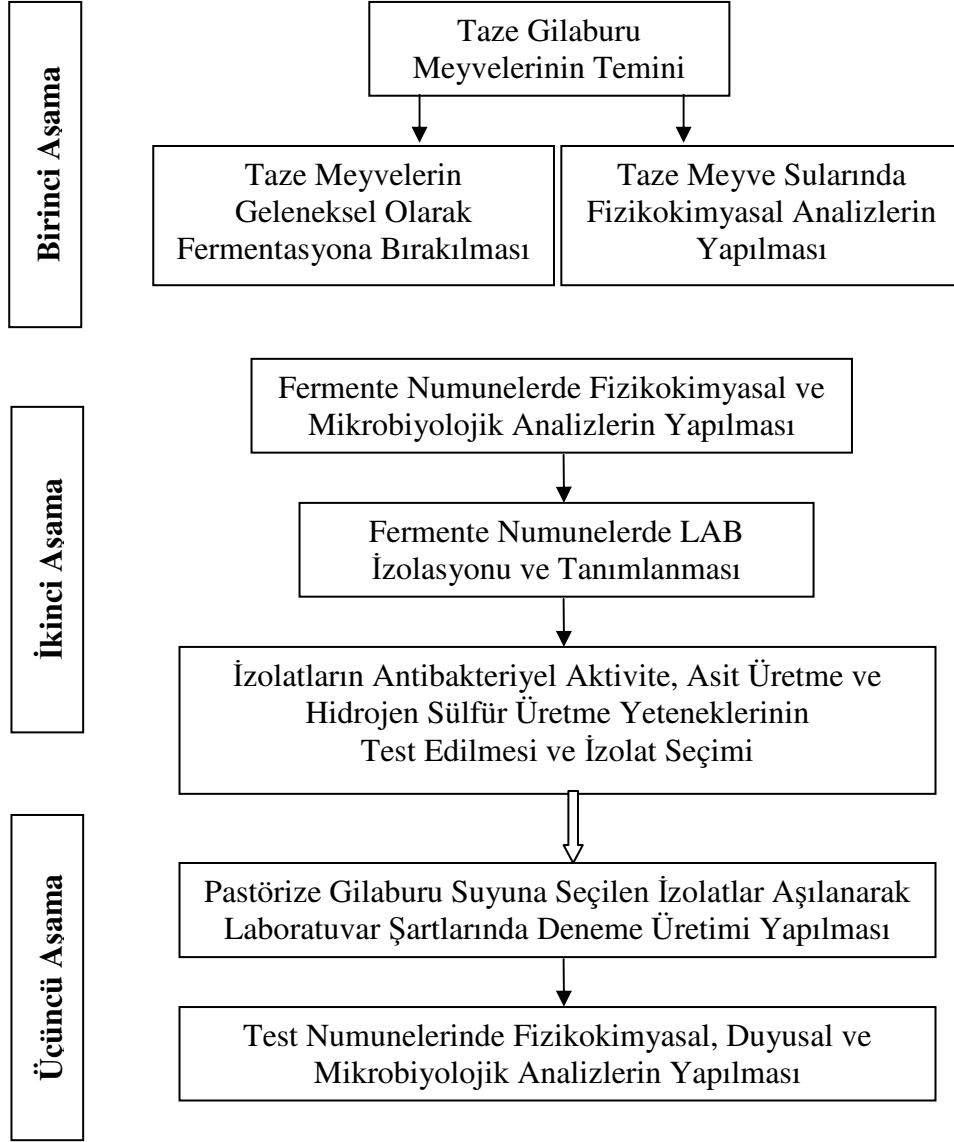
3.2. Gilaburu Numunelerinin Hazırlanması

Taze gilaburu numunelerinden birinci aşama analizleri için bir miktar ayrıldıktan sonra, kalan kısmı ikinci aşama çalışmalarında kullanılmak üzere, geleneksel yöntemle fermente edilmiştir. Bu amaçla, daha önce geleneksel üretim hakkında edinilen ön bilgiye ve geleneksel üretime uygun şekilde gilaburu meyveleri çeşme suyu ile iyice yıkanmış, plastik kaplar içine konulmuş ve kabın ağzına kadar yine çeşme suyu ile doldurularak kapakları sıkıca kapatılmıştır. Her bir kabın üzeri, gilaburunun kaynağı ve fermentasyon başlangıç tarihi bilgilerini içerecek şekilde etiketlenmiştir. Bu şekilde hazırlanan numuneler, 4 ay süreyle oda sıcaklığında beklemeye bırakılmıştır.

Birinci ve ikinci aşamadaki fizikokimyasal analizler için, gilaburu meyveleri önce çeşme suyu ile iyice yıkanıp süzgeç üzerinde yıkama sularının tamamen süzülmesi ve kuruması sağlandıktan sonra, ezilmek suretiyle meyve suyu elde edilmiş ve 1 mm göz açıklığında olan laboratuvar eleğinden geçirilerek çekirdeklerinden ve posasından ayrılmıştır.

Üçüncü aşama numuneleri, ikinci aşama numunelerinden izole ve identifiye edilen LAB'lar kullanılarak hazırlanmıştır. Elde edilen izolatlar, tekli veya kombine olarak 7 farklı gruba ayrılmış ve daha önce bahsedilen meyve suyu fabrikasından temin edilen pastörize gilaburu nektarına inoküle edilerek ve $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat inkübe edilerek 7 farklı yeni numune elde edilmiştir. Hazırlanan bu numuneler, fizikokimyasal analizler ile LAB sayımı yapmak ve duyu analizi panelinde kullanılmak üzere 10 gün süreyle buzdolabı şartlarında bekletilmiştir.

Çalışmada izlenen yol, tüm aşamalarda kullanılan materyal ve yapılan analizler, akış şeması halinde Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada İzlenen Yol

3.3. Yöntemler

3.3.1. Gilaburu Suyu Numunelerinde Yapılan Fizikokimyasal Analizler

Çalışmanın tüm aşamalarında gilaburu suyu numunelerinde (taze, geleneksel fermente ve izolatlarla laboratuvar şartlarında üretilen numunelerde) çözüdür katı madde, pH, asitlik, indirgen şeker, protein, kül, ham selüloz, yağ, etil alkol, askorbik asit ve toplam fenolik madde analizleri yapılmıştır. Tüm analizler paralel çalışılmış olup yöntemlerin ayrıntıları aşağıda verilmiştir.

3.3.1.1. Çözünür Katı Madde (Briks) Tayini

Numunelerin çözünür katı maddeleri, TS 4890 Meyve ve Sebze Mamulleri-Çözünür Katı Madde Miktarı Tayini standardı esas alınarak dijital refraktometre (Labart WYA-2S Abbe, Çin) ile ölçülmüştür [52].

3.3.1.2. pH Tayini

Numunelerin pH değeri, standart tampon çözeltileri ile pH metre (WTW Inolab 720, Almanya) kalibre edildikten sonra pH metre elektrodu $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'deki numune içine direk daldırılarak ölçülmüştür [53].

3.3.1.3. Asitlik Tayini

Asitlik tayini için, gilaburu suyu numunesinden 25 g alınarak 250 ml'lik ölçülü balona aktarılmış, balon işaretine kadar damıtık su ile tamamlanmış ve karıştırılmıştır. Bu şekilde hazırlanan analiz çözeltilerinden 25 ml alınarak %1'lik fenolftalein indikatör çözeltisi eşliğinde 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisi ile titrasyon yapılmıştır. Asitlik, aşağıdaki formül yardımıyla laktik asit cinsinden % olarak hesaplanmıştır [54].

$$\% \text{ Asitlik (laktik asit cinsinden) } = (S \times N \times F \times V_1 \times 0.09 \times 100) / V_2 \times V_0$$

S : Titrasyonda harcanan sodyum hidroksit çözeltisinin hacmi, ml

N : Titrasyonda harcanan sodyum hidroksit çözeltisinin normalitesi

F : Titrasyonda harcanan sodyum hidroksit çözeltisinin faktörü

V_0 : Alınan numune miktarı, g

V_1 : Alınan numunenin tamamlandığı hacim, ml

V_2 : Titrasyon için alınan numune çözeltisi, ml

0.09 : Laktik asitin milieşdeğer gramı

3.3.1.4. İndirgen Şeker Miktarı Tayini

İndirgen şeker miktarı tayini için, 5 g meyve suyu, 100 ml'lik ölçülü balonda damıtık su ile tamamlanıp karıştırıldıktan sonra süzülerek berraklaştırılmış ve 5 ml Fehling A, 5 ml Fehling B ve 10 ml damıtık su karışımının 2 dakika kaynatılması sonrası %1'lik metilen mavisi indikatörlüğünde berrak meyve suyu çözeltisi ile titre edilmiştir. Numunedeki indirgen şeker miktarı, aşağıdaki formülden hesaplanmıştır [55].

$$\text{İndirgen Şeker (g/kg)} = (100 \times F) / (V_T \times V_N)$$

F : Fehling çözeltilerinin faktörü

V_T : Titrasyonda harcanan numune çözeltisinin hacmi, ml

V_N : Analiz için alınan numunenin miktarı, g

3.3.1.5. Protein Tayini

Numunelerin protein tayini için, gilaburu suyu numunesi 420°C'ye ayarlanmış Kjeldahl Yakma Ünitesi'nde (Şimşek Labortechnik, Türkiye) derişik sülfürik asit ve katalizör bulunan ortamda yakıldıktan sonra, Kjeldahl Damıtma Düzeneği'nde (Şimşek Labortechnik, Türkiye) damıtma yapılmıştır. Toplanan destilat, %0.3'lük metilen kırmızısı-metilen mavisi indikatörü kullanılarak 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi ile titre edilip numunedeki azot değeri aşığıdaki formüle göre g/kg cinsinden hesaplanmıştır. Hesaplanan azot değeri, protein faktörü (6.25) ile çarpılarak ham protein değeri bulunmuştur [56].

$$\text{Azot (g/kg)} = (V - V_0) \times N \times F \times M / m$$

V : Titrasyonda harcanan 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi hacmi, ml

V_0 : Tanık deney için titrasyonda harcanan 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi hacmi, ml

N : Titrasyonda kullanılan hidroklorik asit çözeltisinin normalitesi (0.1)

F : 0,1 N hidroklorik asit çözeltisinin faktörü

M : Azotun mol kütlesi (14.007)

m : Numune miktarı, g

3.3.1.6. Kül Miktarı Tayini

Kül miktarı analizi için, sabit tartıma getirilmiş porselen kapsüller kullanılmıştır. Kapsül içine yaklaşık 5 g numune 0.0001 g hassasiyetle tartıldıktan sonra, ısıtıcı tabla üzerinde ön yakma işlemine tabi tutulmuş ve 550±25°C sıcaklıktaki kül fırınında (Protherm PLF 110/8, Türkiye) 4 saat süreyle yakma yapılmıştır. Numunelerdeki kül miktarı, aşığıdaki formül yardımıyla % olarak hesaplanmıştır [57]:

$$\% \text{ Kül} = (m_2 - m_0) \times 100 / m_1$$

m_0 : Boş kapsülün ağırlığı, g

m_1 : Numune ağırlığı, g

m_2 : Yakma işleminin bitiminde kapsül ve toplam külün ağırlığı, g

3.3.1.7. Ham Selüloz Tayini

Numunelerin ham selüloz tayinleri için, yaklaşık 3 g numune 0.0001 g hassasiyetle 250 ml'lik rodajlı bir erlene tartılmış ve üzerine 60 ml Scharrer reaktifi eklenmiştir. Erlen, ısıtıcı üzerine geri soğutma düzeneği altında yerleştirilip 30 dakika kaynaması sağlanmıştır. Kaynama süresinin sonunda, 95–100°C'deki çözelti, vakum erlenine yerleştirilmiş süzme krozesine kantitatif olarak aktarılmış ve su trompu kullanılarak süzölmüş, ardından süzöntü nötral oluncaya kadar sıcak damıtık su ile yıkanmıştır. Daha sonra süzme krozesine üç kez aseton doldurularak vakum tatbik edilmeden süzölmüştür. Bakiye dietil eter ile iki defa yıkanmış ve düşük basınç altında dietil eter uzaklaştırılmıştır. Süzme krozesi, içindeki bakiye ile birlikte 130±2°C'deki etüvde (Elektromag M6040 BP, Türkiye) yaklaşık 1 saat kurutulmuştur. Desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve hemen 0.5 mg hassasiyetle tartılmıştır. İki tartım arasındaki fark en fazla 1 mg oluncaya kadar, kurutma ve desikatörde soğutma işlemleri tekrarlanmıştır. Kurutulmuş bakiye 550±25°C'deki kül fırınında (Protherm PLF 110/8, Türkiye) 30 dakika yakılmıştır. Süzme krozesi oda sıcaklığına kadar desikatörde soğutulmuş ve 0.5 mg hassasiyetle tartılmıştır. Numunedeki ham selüloz miktarı kütlece yüzde olarak aşağıdaki formülden hesaplanmıştır [58].

$$\% \text{ Ham Selüloz} = (M_1 - M_2) \times 100 / M_0$$

M_0 : Analiz numunesinin kütlesi, g

M_1 : Kurutmadan sonra süzme krozesi ve kalıntı, g

M_2 : Yakmadan sonra süzme krozesi ve kalıntı, g

3.3.1.8. Yağ Tayini

Numunelerin yağ tayini, yarı otomatik ekstraksiyon düzeneğinde (Velp/Ser 148-3, İngiltere) çözücü olarak dietileter kullanılarak yapılmış ve kuru madde (KM) üzerinden aşağıdaki formül yardımıyla sonuç hesaplanmıştır [59].

$$\% \text{ Yağ (KM)} = [(m_2 - m_1) \times 100] / [m_0 \times (100 - R)]$$

m_0 : Numune ağırlığı, g

- m_1 : Ekstraksiyon krozesinin ağırlığı, g
 m_2 : Ekstraksiyon krozesinin ve yağın ağırlığı, g
 R : Numunedeki rutubet miktarı, %

3.3.1.9. Etil Alkol Tayini

Etil alkol tayini için, önce gilaburu numunesi damıtma düzeneğinde damıtılmıştır. Damıtık, yoğunluğu 1.49 g/ml olan sülfürik asitli ortamda 42.572 g/l konsantrasyonda hazırlanmış potasyum dikromat çözeltisi ile okside edilmiş ve ortamdaki fazla dikromat, demir (II)-1,10-fenantrolin indikatörü karşısında amonyum demir (II) sülfat çözeltisi ile titre edilmiştir. Sonuçta etil alkol miktarı, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır [60].

$$\text{Etil Alkol (g/l)} = V_1 \times (V_3 - V_2) \times 1000 / (V_3 \times V_0 \times V_4)$$

- V_0 : Titrasyon için alınan deney numunesinin hacmi, ml
 V_1 : Oksidasyon için kullanılan potasyum dikromat çözeltisinin hacmi, ml
 V_2 : Titrasyonunda kullanılan amonyum demir (II) sülfat çözeltisinin hacmi, ml
 V_3 : Tanık deneyde kullanılan amonyum demir (II) sülfat çözeltisinin hacmi, ml
 V_4 : Deney numunesinin hacmi, ml

3.3.1.10. Askorbik Asit Tayini

Numunelerdeki askorbik asit miktarı, titrimetrik yöntemle tayin edilmiştir [61]. Numuneler, %2'lik okzalik asit çözeltisi ile ekstrakte edilmiştir. 10 ml numune üzerine 10 ml %2'lik okzalik asit çözeltisi eklenerek iyice karıştırılmıştır. Bu karışımdan 10 ml alınarak 100 ml'lik ölçülü balona aktarılmış, ekstraksiyon çözeltisi ile çizgisine tamamlanmış ve çalkalanmıştır. Elde edilen analiz çözeltisinden 10 ml alınarak önceden 1 g/l'lik standart askorbik asit çözeltisi ile ayarlanan %0.025'lik 2,6-diklorofenolindofenol boya çözeltisi ile titre edilmiştir. Sonuç, aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\text{Askorbik Asit (mg/100 ml)} = (V_N - V_T) \times m_1 \times 100 / m_0$$

- V_N : Analiz çözeltisinin titrasyonunda sarfedilen boya çözeltisi hacmi, ml
 V_T : Tanık deneyde sarfedilen boya çözeltisi hacmi, ml
 V_0 : Deney numunesi çözeltisinden titrasyon için alınan kısımdaki deney numunesi hacmi, ml

m_1 : Boya çözeltisinin 1 ml'sine eşdeğer askorbik asit kütlesi, mg

3.3.1.11. Toplam Fenolik Madde Tayini

Numunelerin toplam fenolik miktarlarını tespit etmek için, Folin-Ciocalteu metodu kullanılmıştır [62]. Gilaburu suyu numunelerinin metanolla 1:9 oranındaki analiz çözeltileri hazırlanmıştır. Kapaklı deney tüplerine sırasıyla 2400 µl damıtık su, 40 µl numuneden hazırlanan analiz çözeltisi, 200 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ve 600 µl %20'lik sodyum karbonat çözeltisi eklenmiş ve vortekste (Elektromag M16, Türkiye) karıştırılmıştır. Son olarak 760 µl damıtık su ilave edilen tüpler oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda çözeltilerin absorbansı spektrofotometrede (Shimadzu UV-160, Japonya), 765 nm dalga boyunda metanole karşı okunmuştur. Sonuçlar, spektrofotometrede oluşturulan standart gallik asit eğrisinden elde edilen denklem yardımıyla hesaplanarak mg gallik asite eşdeğer (GAE)/100 ml numune olarak kaydedilmiştir.

3.3.2. Gilaburu Numunelerinde Yapılan Mikrobiyolojik Analizler

Geleneksel yöntemle fermente edilerek hazırlanan gilaburu numunelerinde toplam mezofilik aerobik bakteri, koliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, küf ve maya analizleri yapılmış ve LAB izolasyonu, tanımlanması ve doğrulanması çalışmaları yürütülmüştür.

Fermente gilaburu meyvesi numunesinden 25 g aseptik koşullarda steril torbaya analitik terazi (Precisa XB 3200C, İsviçre) ile tartılmış ve 225 ml Maximum Recovery Diluent (Merck) eklenerek gıda mikrobiyolojisi laboratuvar kurallarına uygun olarak torbalı karıştırıcı (Interscience Bagmixer 400, Fransa) yardımıyla homojenize edilmiştir. Hazırlanan bu 10^{-1} dilüsyondan, 10^{-7} 'ye kadar diğer seri dilüsyonlar hazırlanmıştır.

3.3.2.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı

Numunelerin mezofilik aerobik bakteri sayısı, Plate Count Agar (Merck) besiyeri ile dökme yöntemiyle ekim yapılarak çalışılmış ve ekim yapılan petriler $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılmıştır [63].

3.3.2.2. Koliform ve *E. coli* Sayımı

Koliform grubu mikroorganizmalar ve *E. coli* aranması için Chromogenic *E. coli*/Coliform Medium (Oxoid) besiyerine 0.5 ml numune dilüsyonu yayma yöntemiyle ekim yapılarak çalışılmıştır. Ekim yapılan petriler, $35\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edildikten sonra, pembe koloniler koliform, mor koloniler *E. coli* olarak değerlendirilmiştir [64].

3.3.2.3. *Staphylococcus aureus* Sayımı

Numunelerde *S. aureus* aranması ve sayımı için egg-yolk tellurite emulsion (Merck) ilave edilmiş Baird Parker besiyeri (Merck) kullanılmıştır. Yüzeye yayma yöntemiyle ekim yapılan petriler, $35\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır [65].

3.3.2.4. *Bacillus cereus* Sayımı

Numunelerde *B. cereus* aranması ve sayımı için egg-yolk emulsion (Merck) ve polymyxin B (Merck) ilave edilmiş Mannitol-Egg-Yolk-Polymyxine-Agar besiyeri (Merck) kullanılmıştır. Yüzeye yayma yöntemiyle ekim yapılan petriler, $30\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır [66].

3.3.2.5. Küf ve Maya Sayımı

Küf ve maya aranması analizleri için Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol besiyeri (Merck) içeren petrilere uygun dilüsyonlardan yüzeye yayma yöntemiyle ekim yapılmış, $25\pm 1^\circ\text{C}$ 'deki inkübatörde 3-5 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda oluşan küf ve maya kolonileri ayrı ayrı sayılmıştır [67].

3.3.3. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

Fermente gılaburu numunelerinden LAB izolasyonu için MRS agar (Merck) ve M17 agar (Merck) besiyerleri kullanılmıştır. Besiyerlerine sterilizasyon öncesi, küf ve maya gelişimini engellemek amacıyla 10 ppm oranında cycloheximide (actidione) (Acros Organics) katılmıştır. Numunelerin farklı dilüsyonlarından MRS ve M17 agar bulunan petrilere yüzeye yayma yöntemiyle ekim yapılmış ve $30\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 72 saat inkübe edilmiştir [68].

İnkübasyon sonunda sayılabilir yoğunlukta olan petriler ayrılarak sayılmış ve birbirinden farklı görünümdeki iki ya da üç koloni işaretlenmiştir. Bu koloniler, aynı

besiyerlerinin sıvı ortamı olan MRS broth (Merck) ve M17 broth (Merck) besiyerlerine alınıp üremeleri sağlandıktan sonra tekrar agarlı ortama sürme kültür yöntemi ile pasajlanarak saflaştırılmıştır.

Ayrıca, çalışmanın son aşamasında laboratuvar şartlarında gılaburu suyu üretimi sürecinde pastörize ürüne inoküle edilen kültür konsantrasyonunu tespit etmek amacıyla ve daha sonra test numunelerinin 10 günlük soğukta muhafazasının ardından LAB yükünü belirlemek üzere bütün izolatların gelişebildiği MRS besiyerlerine ekim yapılmış ve $30\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 72 saat inkübasyon sonrasında sayım yapılmıştır.

3.3.4. LAB İzolatlarının Tanımlanması

Bakteri izolatlarında öncelikle kolonilerin morfolojik özellikleri, mikroskopik görünüşleri, Gram reaksiyonları ve katalaz aktiviteleri kontrol edilerek ilk ayrımları yapılmıştır. Gram pozitif ve katalaz negatif olan izolatların karbonhidratları kullanma yeteneğini test etmek amacıyla API 50 CHL LAB tanımlama kitlerinden (Biomérieux, Fransa) yararlanılmıştır. İzolatların ayrıca, glikozdan gaz üretme, arjininden amonyak oluşturma, farklı tuz konsantrasyonlarında (%2 ve %4) ve farklı sıcaklıklarda (15°C 'de ve 45°C 'de) gelişme durumları da test edilmiştir.

3.3.4.1. Kolonilerin Morfolojik Özelliklerinin İncelenmesi

LAB için selektif besiyerleri olan MRS Agar ve M17 Agar bulunan petrilere seçilen kolonilerin makroskopik olarak şekli, büyüklüğü, rengi ve yapısı incelenmiştir.

3.3.4.2. Gram Reaksiyonlarının Belirlenmesi

Gram reaksiyonu incelenecek olan 24 saatlik saf kültürlerden, öze yardımıyla temiz bir lam üzerine alınmıştır. Lam üzerine 1 damla serum fizyolojik damlatılarak kültür ve serum fizyolojik lam üzerinde ince bir film oluşturacak şekilde öze ile yayılmıştır. Preparatın oda sıcaklığında iyice kurumaması beklendikten sonra, lamın alt yüzü üç kez bunzen beki alevinden geçirilerek bakterilerin lam üzerine tespiti sağlanmıştır. Hazırlanan preparat üzerine kristal violet çözeltisi damlatılıp 1-2 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda preparat, lugol çözeltisi ile yıkanarak kristal violet uzaklaştırılmış ve preparata tekrar lugol çözeltisi damlatılarak 1-2 dakika daha bekletilmiştir. Damıtık su ile yıkanarak lugol çözeltisi uzaklaştırıldıktan sonra preparatın üzerine %95'lik etil alkol damlatılarak 10-15 saniye beklenmiştir. Lam, damıtık su ile yıkanıp sulu fuksin çözeltisi

damlatılmış ve 20-30 saniye de bu şekilde bekletilmiştir. Son olarak damıtık su ile yıkanan preparat kurutulduktan sonra mikroskopta (Olympus CH, Japonya) 100'lük objektifte incelenmiştir. Mor renkli bakteriler Gram (+), pembe renkli bakteriler ise Gram (-) olarak değerlendirilmiştir [69].

3.3.4.3. Bakterilerin Mikroskopik Görünümlerinin İncelenmesi

Preparatları hazırlanarak gram reaksiyonları tespit edilen izolatların, mikroskopta ayrıca şekilleri (basil, kok, kokobasil), büyüklükleri (büyük, küçük), dizilişleri (zincir, ikili, dörütlü, küme) gibi özellikleri de incelenmiştir.

3.3.4.4. Katalaz Reaksiyonlarının Belirlenmesi

Katalaz reaksiyonu tespit edilecek kolonilerden öze ile alınarak temiz bir lam üzerinde damıtık su ile süspanse edilmiştir. Bunun üzerine bir damla %3'lük hidrojen peroksit çözeltisi ilave edilerek karıştırılmıştır. Hava kabarcıklarının çıkışı, katalaz (+) olarak değerlendirilmiştir.

3.3.4.5. API 50 CHL Sistemi İle Tanımlama

Numunelerden elde edilen izolatların 49 karbonhidratı fermentasyon profili, API 50 CHL tanımlama kitleri ile ortaya konmuştur. MRS ya da M17 agarda saf olduğu tespit edilen taze kültürden bir-iki koloni öze yardımıyla alınıp, 10 ml'lik API 50 CHL sıvı besiyeri içine inoküle edilerek 2 McFarland'a eşdeğer bir süspanسیون hazırlanmış ve vorteks (Elektromag M 16, Türkiye) kullanılarak homojen hale getirilmiştir.

Daha önce oda ısısına getirilerek kullanıma hazırlanan striplerin küpülleri, pastör pipeti kullanılarak süspanسیونla doldurulmuş ve strip küpülleri mineral yağ ile kapatıldıktan sonra $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda, striplerdeki bakteriler Mini API cihazı (Biomerieux, Fransa) kullanılarak tanımlanmıştır.

3.3.4.6. Glikozdan Gaz Üretme Testi

İzolatların glikozdan gaz üretme testleri, içerisinde Durham tüpleri bulunan MRS sıvı besiyeri içeren tüplerde yapılmıştır. 24 saatlik taze kültürden öze ile tüplere inokülasyon yapılmış ve $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda, Durham tüpleri içinde gaz oluşup oluşmadığı gözlenmiştir.

3.3.4.7. Arjininden Amonyak Oluşturma Testi

İzolatlardan, arjinin hidrolizi sonunda amonyak oluşturup oluşturmadığını test etmek üzere, öncelikle Arjinin MRS broth besiyeri hazırlanmıştır. Besiyerlerine test edilecek izolat inoküle edilmiş ve $30\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda beyaz zemine yerleştirilen bir lam üzerine izolat içeren besiyerinden 1 ml alınmış ve besiyeri üzerine Nessler Reaktif damlatılarak renk değişimi gözlenmiştir. Turuncu renk oluşumu pozitif, renk değişikliği olmaması negatif olarak değerlendirilmiştir.

Arjinin MRS Broth

Aşağıdaki bileşenlerden hazırlanan besiyeri, sıcak su banyosunda tamamen çözüldürüldükten sonra kapaklı tüplere 10'ar ml dağıtılmış ve 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Kazein pepton 10.0 g/l; Et ekstraktı 8.0 g/l; Maya ekstraktı 4.0 g/l; D(+) Glikoz 20.0 g/l; di-Potasyum hidrojen fosfat 2.0 g/l; Tween 80 1.0 g/l; di-Amonyum hidrojen sitrat 2.0 g/l; Sodyum asetat 5.0 g/l; Magnezyum sülfat 0.2 g/l; Manganez sülfat 0.04 g/l

Nessler Reaktifi

10.0 g susuz civa-2 iyodür (HgI_2) ve 7.0 g potasyum iyodür (KI), 35 ml damıtık suda çözülmüştür. Ayrıca 16.0 g sodyum hidroksit (NaOH), 50 ml damıtık suda çözülmüş ve oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Sodyum hidroksit çözeltilisi yavaş yavaş civa-2 iyodür-potasyum iyodür çözeltilisine ilave edilmiştir. Son olarak karışım 100 ml'ye tamamlanarak izolatların arjininden amonyak oluşturma testlerinde kullanılmak üzere Nessler Reaktifi hazırlanmıştır.

3.3.4.8. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme Testi

İzolatlardan 15°C ve 45°C 'de üreme yetenekleri, MRS sıvı besiyeri içeren tüplere inokülasyon ardından 15°C 'ye (Nüve ES 110, Türkiye) ve 45°C 'ye (Heraeus T5042, Almanya) ayarlı inkübatörlerde 24-48 saat sonunda gözlenmiştir.

3.3.4.9. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Üreme Testi

İzole edilen kültürlerin farklı tuz konsantrasyonlarında üreme yeteneklerini test etmek için, %2 ve %4 sodyum klorür ilave edilerek MRS broth besiyeri hazırlanmıştır. Test edilecek izolat, bu besiyerini içeren tüplere inoküle edilerek $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda izolatin üreme yeteneği, besiyerinde bulanıklık olup olmaması gözlenerek değerlendirilmiştir.

3.3.5. Tanımlanan LAB İzolatlarına Uygulanan Testler

Geleneksel yöntemle fermente edilmiş gilaburu meyvelerinden izole edilen ve tanımlanan LAB izolatları, pastörize gilaburu nektarına inoküle edilmeden önce, antibakteriyel aktivite ve asit üretme yetenekleri açısından test edilmiştir.

3.3.5.1. İzolatların Antibakteriyel Aktivitelerinin Test Edilmesi

İzolatların antibakteriyel aktiviteleri, agar disk difüzyon yöntemiyle test edilmiştir [6]. Antibakteriyel aktivite için, *E. coli* (ATCC 11230), *Listeria monocytogenes* 1/2b (RSKK 472) ve *S. aureus* (ATCC 25923) olmak üzere üç test bakterisi seçilmiştir. Nutrient Agar besiyeri (Merck) bulunan petrilerin yüzeyine Nutrient broth (Merck) içindeki 18 saatlik test bakterilerinin kültürlerinden (10^7 - 10^8 kob/ml bakteri içeren) 100 µl yayılmış ve besiyerinin kültürü çekmesi ve kuruması için bir süre bekletilmiştir. Daha sonra 6 mm çapındaki steril kağıt diskler petrilere önceden işaretlenen noktalara steril pens yardımıyla yerleştirilmiştir. LAB izolatlarının sıvı ortamdaki 18 saatlik kültürleri 2 McFarland'a eşdeğer olacak şekilde ayarlanıp her bir disk üzerine mikropipetle 20 µl damlatılarak emdirilmiştir. Petriler $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapı kumpasla milimetrik olarak ölçülmüştür.

3.3.5.2. İzolatların Asit Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi

İzolatların asit üretme yeteneklerini test etmek için steril MRS sıvı besiyeri bulunan tüplere izolatlardan ayrı ayrı inoküle edilmiş ve $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sürecinde 3, 6, 18 ve 24. saatler sonunda kültürlerde pH ölçümleri yapılmıştır [6].

3.3.5.3. İzolatların Hidrojen Sülfür Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi

İzolatların hidrojen sülfür üretme yeteneklerini belirlemek için, Triple Sugar Iron Agar (Oxoid) yatak besiyerine öze ile aktif kültürden ekim yapıldıktan sonra $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 2 hafta inkübe edilmiştir. Süre sonunda besiyerinin renginde siyahlaşma olup olmadığı gözlenmiştir [70].

3.3.6. İzolatların Kullanılarak Laboratuvar Şartlarında Fermente Gilaburu Suyu Üretme Çalışması

Geleneksel olarak fermente edilmiş gilaburu meyvelerinden izole edilen ve tanımlanan LAB izolatlarında yapılan testler sonunda tek izolat ya da izolat kombinasyonundan oluşan 7 farklı kültür seçilmiştir.

Seçilen starter kültürler, MRS sıvı besiyerine arka arkaya iki kez pasajlanıp, ikinci pasaj sonucunda $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 18 saatlik inkübasyonla, 10^8 kob/ml bakteri içeren aktif taze kültürler elde edilmiştir. Gülsan Gıda San. ve Tic. A.Ş. firmasından temin edilen ticari pastörize gilaburu nektarı numuneleri, aseptik ortamda steril 200 ml'lik cam şişelere aktarılmış ve %6 oranında starter kültür inoküle edilmiştir. Ayrıca, bakteri kültürlerinin gelişimini kolaylaştırmak için daha önceden otoklavda sterilize edilen %20'lik glikoz ve %20'lik fruktoz çözeltilerinden %1 oranlarında eklenmiştir. Cam şişeler steril kapaklarla kapatılıp $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Laboratuvar şartlarında üretilen fermente gilaburu suyu numuneleri, 10 gün süreyle 4°C 'de buzdolabında bekletilmiştir. Süre sonunda, numunelerde LAB yükü tespit edilmiş, fizikokimyasal analizler ve ayrıca duyu analizi yapılmıştır.

3.3.7. Duyusal Analizler

Bu çalışma süresince farklı zamanlarda iki kez duyu analizi yapılmıştır. İlk olarak, laboratuvar şartlarındaki üretimde kullanılacak izolat ve/veya izolat kombinasyonu için fikir vermek ve ikinci duyu analizde kullanılacak numunelerle karşılaştırmak üzere, geleneksel yöntemle fermente edilen toplam 9 gilaburu suyu numunesine duyu analizi yapılmıştır. Daha sonra ise, laboratuvar şartlarında üretilen 7 gilaburu suyu numunesi, yukarıda bahsedilen ilk duyu analizde en yüksek puan alan geleneksel fermente

numune ve ticari olarak üretilmiş pastörize gilaburu nektarı ile birlikte duyuşsal analize alınmıştır.

Her iki duyuşsal analiz için, gilaburunun duyuşsal özellikleri konusunda deneyimli Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Kayseri İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü teknik personelinden 7 ve Gülsan Gıda San. ve Tic. A.Ş. teknik personelinden 1 kişi olmak üzere 8 kişilik bir panel grubu oluşturulmuştur. Panelistlerin numuneleri renk/görünüm, tat, koku ve genel beğeni özellikleri yönünden 5 noktalı hedonik skala ile değerlendirmeleri istenmiştir (Şekil 3.2). Bu skalada 5 “çok beğendim” ve 1 “hiç beğenmedim” olarak kabul edilmiştir. Panel öncesi panelistlere duyuşsal değerlendirme ile ilgili genel bilgi ve panelde dikkat edilecek hususları kapsayan bir ön eğitim verilmiştir. Tüm numuneler, panelistlere şeffaf plastik bardaklarda sunulmuştur. Duyuşsal analizler, öğleden sonra saat 15.00’da gerçekleştirilmiştir.

Lütfen size verilen numuneleri aşağıdaki kriterlere göre değerlendiriniz.

Numune Kodu:	Renk/ Görünüm	Tat	Koku	Genel Beğeni
Çok beğendim				
Beğendim				
Orta derecede beğendim				
Beğenmedim				
Hiç beğenmedim				

Şekil 3.2. Duyuşsal Analiz Formu Örneği

3.3.8 İstatistiksel Analizler

Yapılan fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal analizler ile elde edilen verilerin istatistiksel analizi Windows tabanlı SAS 8.0 istatistiksel paket program kullanılarak yapılmıştır [71]. Fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özelliklere farklı numunelerin etkisi, tek faktör varyans analizi ile belirlenmiştir. Gruplar arasındaki fark, Tukey çoklu karşılaştırma yöntemi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

4. BÖLÜM

BULGULAR

4.1. Numunelerde Yapılan Fizikokimyasal Analiz Çalışmaları

Birinci aşamada, Kayseri ve civarındaki 9 farklı bölgeden temin edilen gilaburu numunelerinde ve ikinci aşamada ise geleneksel yöntemle fermente edilen numunelerde yapılan briks, pH, asitlik, indirgen şeker, protein, kül, ham selüloz, yağ, etil alkol, askorbik asit ve toplam fenolik madde miktarı analiz sonuçları ayrı ayrı Tablo 4.1 ve Tablo 4.2’de verilmiştir. Bu sonuçların en düşük, en yüksek ve ortalama değerleri ise Tablo 4.3’de karşılaştırılmıştır. Briks, pH, asitlik, indirgen şeker, protein, kül, ham selüloz, yağ, etil alkol, askorbik asit ve toplam fenolik madde miktarları bakımından, çalışmaya alınan taze gilaburu suyu ve geleneksel fermente gilaburu suyu numuneleri arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

Araştırmanın üçüncü aşamasında pastörize gilaburu nektarında ve laboratuvar şartlarında pastörize gilaburu nektarına seçilen izolat veya izolat kombinasyonu inoküle edilerek fermente edilen 7 gilaburu suyu numunesinde yapılan fizikokimyasal analiz sonuçları ise Tablo 4.4’de gösterilmiştir. Bu analizlerden pH, asitlik, indirgen şeker, protein, etil alkol, askorbik asit ve toplam fenolik madde miktarları sonuçlarına test numunelerinin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olurken, diğer fizikokimyasal parametrelerde numuneler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu ($p>0.05$) anlaşılmıştır.

Tablo 4.1. Taze Gilaburu Suyu Numunelerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri*

Özellikler	Taze Gilaburu Suyu Numuneleri								
	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9
Briks	8.30 ^h ±0.0	9.25 ^c ±0.0	11.00 ^a ±0.0	9.10 ^d ±0.0	9.00 ^e ±0.0	8.50 ^g ±0.0	8.10 ^l ±0.0	10.50 ^b ±0.0	8.70 ^f ±0.0
pH	3.08 ^g ±0.0	3.32 ^d ±0.0	3.40 ^b ±0.0	3.27 ^e ±0.0	3.44 ^a ±0.0	3.40 ^b ±0.0	3.27 ^e ±0.0	3.38 ^c ±0.0	3.10 ^f ±0.0
Asitlik (% LA)	1.89 ^g ±0.0	1.94 ^f ±0.0	2.30 ^e ±0.0	2.34 ^b ±0.0	2.37 ^a ±0.01	2.33 ^b ±0.0	2.32 ^{cb} ±0.0	2.24 ^d ±0.05	2.10 ^e ±0.05
İnd. Şeker (g/kg)	61.10 ^{fe} ±0.26	76.84 ^a ±0.40	73.75 ^b ±0.15	70.71 ^d ±0.27	71.40 ^d ±0.14	60.39 ^f ±0.25	61.76 ^e ±0.05	77.42 ^a ±0.41	72.64 ^c ±0.18
Protein (g/kg)	1.20 ^e ±0.0	1.14 ^f ±0.0	1.51 ^a ±0.0	1.36 ^{cd} ±0.0	1.38 ^{cb} ±0.0	1.33 ^{cd} ±0.0	1.42 ^b ±0.0	1.32 ^d ±0.0	1.49 ^a ±0.0
Kül (%)	0.4238 ^e ±0.01	0.5626 ^c ±0.01	0.6980 ^a ±0.0	0.4526 ^e ±0.0	0.4866 ^{de} ±0.01	0.6321 ^b ±0.0	0.5236 ^{dc} ±0.01	0.5646 ^c ±0.01	0.5318 ^{dc} ±0.01
Ham Selüloz (%)	0.5140 ^d ±0.01	0.6953 ^b ±0.01	0.7510 ^a ±0.01	0.5277 ^d ±0.01	0.5260 ^d ±0.0	0.7064 ^b ±0.01	0.4950 ^d ±0.01	0.7012 ^b ±0.01	0.6017 ^c ±0.01
Yağ (% KM)	0.3898 ^a ±0.0	0.3362 ^{ed} ±0.0	0.3202 ^e ±0.01	0.3588 ^{bdc} ±0.01	0.3699 ^{bac} ±0.0	0.3812 ^{ba} ±0.0	0.3270 ^e ±0.0	0.3288 ^e ±0.0	0.3552 ^{dc} ±0.0
Etil Alkol (g/l)	- _a	- _a	- _a	- _a	- _a	- _a	- _a	- _a	- _a
AA (mg/100 ml)	58.84 ^a ±0.1	54.94 ^{bcd} ±0.1	52.19 ^{ed} ±0.05	51.44 ^e ±0.1	53.59 ^{ecd} ±0.05	54.24 ^{bc} ±1.6	52.59 ^{ed} ±0.05	57.89 ^{ba} ±0.05	53.19 ^{ecd} ±0.05
TFM (mg/100 ml)	539.90 ^{bcd} ±0.51	515.05 ^{efd} ±4.06	544.46 ^{bc} ±9.12	497.80 ^{ef} ±8.12	556.64 ^{ba} ±5.07	558.16 ^{ba} ±4.56	488.18 ^f ±2.54	583.52 ^a ±2.54	526.04 ^{ecd} ±3.21

*: Ortalama±standart sapma

İnd. Şeker: İndirgen Şeker; AA: Askorbik Asit; TFM: Toplam Fenolik Madde; -: Tespit edilemedi

N1-N9: Tablo 3.1.'de kaynağı açık olarak verilen taze gilaburu suyu numuneleri.

a-ı: Farklı harfler, aynı satır için veriler arası istatistiksel fark olduğunu göstermektedir (p<0.05).

Tablo 4.2. Geleneksel Yöntemle Fermente Edilen Gilaburu Suyu Numunelerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri*

Özellikler	Geleneksel Yöntemle Fermente Edilen Gilaburu Suyu Numuneleri								
	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9
Briks	8.00 ^h ±0.0	9.00 ^d ±0.0	10.70 ^a ±0.0	8.80 ^e ±0.0	8.70 ^f ±0.0	8.20 ^g ±0.0	7.90 ⁱ ±0.0	10.20 ^b ±0.0	9.50 ^c ±0.0
pH	2.43 ^h ±0.0	2.46 ^g ±0.01	2.69 ^a ±0.0	2.40 ⁱ ±0.0	2.49 ^f ±0.0	2.57 ^e ±0.0	2.58 ^d ±0.0	2.66 ^b ±0.0	2.60 ^c ±0.0
Asitlik (% LA)	1.76 ^g ±0.0	1.85 ^f ±0.01	2.00 ^d ±0.0	2.12 ^b ±0.0	1.72 ^h ±0.0	2.23 ^a ±0.0	1.59 ⁱ ±0.0	2.07 ^c ±0.0	1.93 ^e ±0.0
İnd. Şeker (g/kg)	46.98 ^d ±0.08	55.14 ^a ±0.10	13.52 ^b ±0.0	14.79 ^h ±0.01	21.46 ^g ±0.01	25.74 ^f ±0.02	50.11 ^c ±0.08	52.24 ^b ±0.11	39.87 ^e ±0.08
Protein (g/kg)	0.39 ^d ±0.02	0.41 ^d ±0.01	0.53 ^{ba} ±0.01	0.58 ^a ±0.01	0.58 ^a ±0.01	0.52 ^{bac} ±0.01	0.49 ^{bc} ±0.01	0.57 ^a ±0.01	0.45 ^{dc} ±0.01
Kül (%)	0.3896 ^d ±0.01	0.5115 ^b ±0.0	0.6233 ^a ±0.01	0.4126 ^d ±0.01	0.4436 ^{cd} ±0.01	0.5826 ^a ±0.01	0.4842 ^{cb} ±0.01	0.5087 ^b ±0.01	0.4958 ^{cb} ±0.01
Ham Selüloz (%)	0.4730 ^c ±0.0	0.6328 ^a ±0.01	0.6786 ^a ±0.01	0.4815 ^c ±0.01	0.4812 ^c ±0.01	0.6485 ^a ±0.0	0.4562 ^c ±0.01	0.6295 ^a ±0.0	0.5711 ^b ±0.01
Yağ (% KM)	0.3816 ^{ba} ±0.0	0.3262 ^{fg} ±0.0	0.3038 ^h ±0.0	0.3474 ^{dc} ±0.0	0.3609 ^{dc} ±0.01	0.3712 ^{bc} ±0.0	0.3952 ^a ±0.0	0.3171 ^{hg} ±0.0	0.3422 ^{fe} ±0.0
Etil Alkol (g/l)	0.6588 ^h ±0.0	2.4941 ^g ±0.05	5.8824 ^b ±0.05	6.1176 ^a ±0.0	4.6588 ^c ±0.05	4.3764 ^d ±0.05	4.0942 ^e ±0.05	3.1059 ^f ±0.05	0.8470 ^b ±0.0
AA (mg/100 ml)	36.39 ^a ±0.05	33.34 ^c ±0.1	28.94 ^e ±0.0	29.24 ^e ±0.1	31.14 ^d ±0.0	31.44 ^d ±0.1	31.04 ^d ±0.1	35.84 ^b ±0.1	33.04 ^c ±0.1
TFM (mg/100 ml)	691.54 ^{bc} ±7.10	633.22 ^{de} ±3.56	675.82 ^{bc} ±11.66	611.41 ^e ±4.06	703.70 ^{ba} ±3.04	699.14 ^{ba} ±5.58	601.26 ^e ±4.06	731.09 ^a ±2.03	665.16 ^{dc} ±5.08

*: Ortalama±standart sapma

İnd. Şeker: İndirgen Şeker; AA: Askorbik Asit; TFM: Toplam Fenolik Madde

G1-G9: Tablo 3.1.'de kaynağı açık olarak verilen geleneksel fermente gilaburu suyu numuneleri.

a-ı: Farklı harfler, aynı satır için veriler arası istatistiksel fark olduğunu göstermektedir (p<0.05).

Tablo 4.3. Taze ve Geleneksel Fermente Numunelerin Fizikokimyasal Özelliklerinin Karşılaştırılması

Özellikler	Taze			Geleneksel Fermente		
	En Düşük	En Yüksek	Ortalama	En Düşük	En Yüksek	Ortalama
Briks	8.30	11.00	9.16	7.90	10.70	9.00
pH	3.08	3.40	3.30	2.43	2.69	2.54
Asitlik (% LA)	1.89	2.34	2.20	1.59	2.07	1.92
İnd. Şeker (g/kg)	60.39	76.84	69.54	13.52	55.14	35.52
Protein (g/kg)	1.14	1.51	1.35	0.39	0.58	0.50
Kül (%)	0.4238	0.6980	0.5418	0.3896	0.6233	0.4948
Ham Selüloz (%)	0.4950	0.7510	0.6131	0.4562	0.6786	0.5614
Yağ (% KM)	0.3202	0.3898	0.3519	0.3038	0.3952	0.3495
Etil Alkol (g/l)	-	-	-	0.6588	6.1176	3.5817
AA (mg/100 ml)	51.44	58.84	54.32	28.94	36.39	32.27
TFM (mg /100 ml)	488.18	583.52	534.42	601.26	731.09	668.04

İnd. Şeker: İndirgen Şeker; AA: Askorbik Asit; TFM: Toplam Fenolik Madde; -: Tespit edilemedi

Tablo 4.4. Laboratuvar Şartlarında İzolatlarla Üretilen Gilaburu Suyu Numunelerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri*

Özellikler	Test Numuneleri							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Briks	6.40 ^a ±0.0	6.40 ^a ±0.0	6.40 ^a ±0.0	6.40 ^a ±0.0	6.40 ^a ±0.0	6.40 ^a ±0.0	6.40 ^a ±0.0	6.40 ^a ±0.0
pH	2.88 ^f ±0.0	2.85 ^g ±0.0	2.93 ^c ±0.0	2.85 ^g ±0.0	2.90 ^c ±0.0	2.92 ^d ±0.0	2.94 ^b ±0.0	3.04 ^a ±0.0
Asitlik (% LA)	0.93 ^c ±0.0	0.94 ^c ±0.0	0.97 ^d ±0.0	0.97 ^d ±0.0	1.01 ^c ±0.0	1.03 ^b ±0.01	1.01 ^c ±0.0	1.11 ^a ±0.0
İnd. Şeker (g/kg)	38.26 ^b ±0.03	35.47 ^g ±0.04	36.56 ^d ±0.04	36.82 ^c ±0.05	34.48 ^h ±0.05	35.79 ^f ±0.02	36.23 ^e ±0.04	39.63 ^a ±0.02
Protein (g/kg)	1.06 ^b ±0.0	1.04 ^b ±0.0	0.95 ^{dc} ±0.01	0.92 ^d ±0.0	0.96 ^c ±0.0	1.04 ^b ±0.01	0.97 ^c ±0.0	1.12 ^a ±0.0
Kül (%)	0.3288 ^a ±0.0	0.3139 ^a ±0.0	0.3136 ^a ±0.0	0.3181 ^a ±0.01	0.3207 ^a ±0.01	0.3110 ^a ±0.01	0.3108 ^a ±0.0	0.3281 ^a ±0.0
Ham Selüloz (%)	0.3825 ^a ±0.0	0.3768 ^a ±0.01	0.3950 ^a ±0.0	0.3742 ^a ±0.01	0.3578 ^a ±0.01	0.3916 ^a ±0.0	0.3606 ^a ±0.01	0.3983 ^a ±0.01
Yağ (% KM)	0.4026 ^a ±0.01	0.4002 ^a ±0.01	0.3998 ^a ±0.01	0.3984 ^a ±0.01	0.4090 ^a ±0.01	0.4056 ^a ±0.01	0.4128 ^a ±0.0	0.4163 ^a ±0.0
Etil Alkol (g/l)	0.6742 ^c ±0.0	0.9888 ^d ±0.0	0.9438 ^d ±0.0	1.4832 ^b ±0.0	1.7978 ^a ±0.0	1.5730 ^b ±0.0	1.1685 ^c ±0.0	- ^f
AA (mg/100 g)	38.22 ^a ±0.0	37.73 ^b ±0.0	37.46 ^b ±0.0	37.90 ^b ±0.0	36.48 ^c ±0.0	36.92 ^c ±0.0	37.94 ^b ±0.0	38.86 ^a ±0.0
TFM (mg/100 ml)	633.71 ^{ba} ±2.03	631.18 ^{ba} ±2.54	629.66 ^{ba} ±2.02	626.62 ^b ±5.07	642.86 ^a ±1.02	629.16 ^{ba} ±3.55	632.20 ^{ba} ±0.51	618.51 ^b ±2.03

*: Ortalama±standart sapma

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7: Laboratuvar şartlarında LAB inoküle edilerek üretilen gilaburu suyu numuneleri; T8: Ticari pastörize gilaburu nektarı; İnd. Şeker: İndirgen Şeker; AA: Askorbik Asit; TFM: Toplam Fenolik Madde

a-h: Farklı harfler, aynı satır için veriler arası istatistiksel fark olduğunu göstermektedir (p<0.05).

4.2. Numunelerde Yapılan Mikrobiyolojik Analizler

4.2.1. Numunelerin Mikrobiyolojik Özellikleri

Araştırmanın ilk aşamasında temin edilerek geleneksel yöntemle fermentasyona bırakılan gilaburu numuneleri, 4 aylık fermentasyon sonunda mikrobiyolojik analizlere alınmıştır. Numunelerde LAB izolasyon ve identifikasyon çalışmalarının yanısıra toplam mezofilik aerobik bakteri, koliform, *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, küf ve maya analizlerinin sonuçları Tablo 4.5’de verilmiştir.

Geleneksel yöntemle fermente edilen numunelerin toplam mezofilik aerobik bakteri yükleri, 4.57 ve 5.96 log kob/g arasında değişmiştir. Numunelerden yapılan mikrobiyolojik ekimlerin hiçbirinde *E. coli*, *S. aureus* ve *B. cereus* üremesi gözlenmemiştir. Ancak analiz sonuçları, numunelerin ikisinde koliform grubu bakteri kontaminasyonu olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca numunelerin ikisi hariç diğerlerinde küf tespit edilemezken, tüm numunelerde 3.91 ve 5.18 log kob/g arasında maya tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel çalışma, numunelerin mikrobiyolojik analiz sonuçlarına etkisinin önemli olduğunu ($p<0.05$) göstermiştir.

4.2.2. Numunelerden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Araştırmanın ikinci aşamasında kullanılan 9 adet numunede yapılan LAB izolasyon çalışmasında, her numune için MRS Agar ve M17 Agar besiyerlerine farklı dilüsyonlardan paralel olarak ayrı ayrı ekim yapılmış ve ekim sonucunda petriyelerdeki koloniler sayılmıştır. Koloni sayım sonuçları ortalama değerlerinin numunelere göre dağılımı, Tablo 4.6’da verilmiştir. MRS besiyerinde muhtemel LAB olarak sayılan koloniler 3.82 log kob/g ve 6.48 log kob/g arasında değişirken M17 besiyerinde 3.93 log kob/g ve 6.32 log kob/g arasında değişmiştir.

Hem MRS hem de M17 besiyerinde petriyelerde sayım ardından muhtemel LAB kolonileri saflaştırılarak tanımlama testlerine geçilmiştir. Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6’da, sırasıyla MRS besiyerinde saflaştırılmış *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei*, *Pediococcus* spp. ve *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii* izolatlarının koloni görünüşleri verilmiştir.

İzolatlara uygulanan API 50 CHL LAB tanımlama testlerinin ve klasik biyokimyasal tanımlama testlerinin sonuçları da Tablo 4.7’de gösterilmiştir. Tablodan da görüldüğü

gibi, çalışılan 9 farklı numunede 21 adet izolat elde edilmiştir. İzolatlar, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei*, *Pediococcus* spp. ve *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii* olmak üzere 6 farklı LAB türünden oluşmaktadır. Bu LAB'nin, çalışma sürecinde elde edilen toplam izolatlar içinde dağılımı Tablo 4.8'de sıralanmıştır. Buna göre, geleneksel fermente gilaburu numunelerinden elde edilen izolatların çoğunluğu olan %47.62'sini *Lb. plantarum*'un oluşturduğu, daha sonra %19.05 oranı ile *L. brevis*'in geldiği görülmektedir. *Lb. buchneri*, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* ve *Pediococcus* spp,'nin her biri izolatların %9.52'sini ve *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii* ise izolatların en az kısmı olan %4.76'sını oluşturmaktadır.

Ayrıca, Tablo 4.9'de, geleneksel yöntemle fermente edilen gilaburu suyu numunelerinde yapılan LAB izolasyon çalışmasının numune bazında ayrıntıları verilmiştir. Bu tablo ile, araştırmada kullanılan 9 adet geleneksel fermente gilaburu numunesinin her birinde hangi besiyerleri ve dilüsyonlardan hangi LAB izolatlarının elde edildiği ve tanımlanan izolat sayıları, türleri ve çalışma sürecinde verilen kodları gösterilmiştir.

Aynı zamanda, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* *Pediococcus* spp. ve *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii* izolatlarının her birine ait API 50 CHL tanımlama test sonuçlarını gösteren fotoğraflar, sırasıyla Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'de verilmiştir.

Tablo 4.5. Geleneksel Yöntemle Fermente Edilen Gilaburu Numunelerinin Mikrobiyolojik Özellikleri*

Özellikler (log kob/g)	Geleneksel Yöntemle Fermente Edilen Gilaburu Numuneleri								
	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri	4.78 ^{cb} ±0.08	4.51 ^{cb} ±0.08	5.96 ^a ±0.04	5.67 ^a ±0.08	5.61 ^a ±0.07	4.77 ^{cb} ±0.07	4.88 ^b ±0.09	5.75 ^a ±0.07	4.37 ^c ±0.07
Koliform	<1 ^c	<1 ^c	2.20 ^b ±0.05	2.38 ^a ±0.05	<1 ^c	<1 ^c	<1 ^c	<1 ^c	<1 ^c
<i>E. coli</i>	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a
<i>S. aureus</i>	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a
<i>B. cereus</i>	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a	<1 ^a
Küf	<1 ^c	<1 ^c	4.95 ^a ±0.05	4.11 ^b ±0.10	<1 ^c	<1 ^c	<1 ^c	<1 ^c	<1 ^c
Maya	5.17 ^a ±0.08	4.30 ^{de} ±0.07	5.18 ^a ±0.12	5.02 ^{ba} ±0.08	4.65 ^c ±0.08	4.48 ^{dc} ±0.04	4.24 ^e ±0.07	3.91 ^f ±0.12	4.90 ^b ±0.03

*: Ortalama±standart sapma; a-f: Farklı harfler, aynı satır için veriler arası istatistiksel fark olduğunu göstermektedir (p<0.05).

G1-G9: Tablo 3.1.'de kaynağı açık olarak verilen geleneksel fermente gilaburu numuneleri.

Tablo 4.6. Geleneksel Yöntemle Fermente Edilen Gilaburu Numunelerinde MRS ve M17 Besiyerindeki Koloni Sayım Sonuçları*

Koloni Sayıları (log kob/g)	Geleneksel Yöntemle Fermente Edilen Gilaburu Numuneleri								
	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9
MRS Agar	5.46 ^a ±0.07	5.50 ^a ±0.09	6.48 ^a ±0.03	4.42 ^b ±0.09	5.61 ^a ±0.05	5.78 ^a ±0.07	3.82 ^c ±0.07	5.62 ^a ±0.02	5.67 ^a ±0.02
M17 Agar	5.45 ^{ba} ±0.05	5.52 ^{ba} ±0.09	6.32 ^a ±0.04	4.32 ^c ±0.07	5.25 ^b ±0.10	5.71 ^{ba} ±0.11	3.93 ^c ±0.04	5.67 ^{ba} ±0.10	5.72 ^{ba} ±0.04

*: Ortalama±standart sapma; a-c: Farklı harfler, aynı satır için veriler arası istatistiksel fark olduğunu göstermektedir (p<0.05).

G1-G9: Tablo 3.1.'de kaynağı açık olarak verilen geleneksel fermente gilaburu numuneleri.

Tablo 4.7. Geleneksel Yöntemle Fermente Edilen Gilaburu Numunelerinden Elde Edilen LAB İzolatlarının Özellikleri

TESTLER	İZOLATLAR																				
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	L11	L12	L13	L14	L15	L16	L17	L18	L19	L20	L21
Gram Reaksiyonu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz Reaksiyonu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glikozdan Gaz Üretimi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	(-)
Arjininden NH ₃ Oluşturma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
% 2 NaCl' de Üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
% 4 NaCl' de Üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
15°C'de Gelişme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)
45°C'de Gelişme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	+
Glycerol	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Erythritol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Arabinose	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
D-Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

Tablo 4.7. Devamı

L-Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
β Methyl-D-Xyloside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
Sorbose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
Rhamnose	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+	-
Dulcitol	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
α -Methyl-D-Mannoside	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
α -Methyl-D-Glucoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N-Asethyl Glucosamine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-

Tablo 4.7. Devamı

Gentiobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
D-Turanose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
D- Lyxose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
D-Tagatos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
D-Fucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Fucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Arabitol	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gluconate	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-
2-Keto-Gluconate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
5-Keto-Gluconate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Tanımlama Sonucu	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. buchneri</i>	<i>Lb. buchneri</i>	<i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i>	<i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i>	<i>Pediococcus</i> spp.	<i>Pediococcus</i> spp.	<i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>

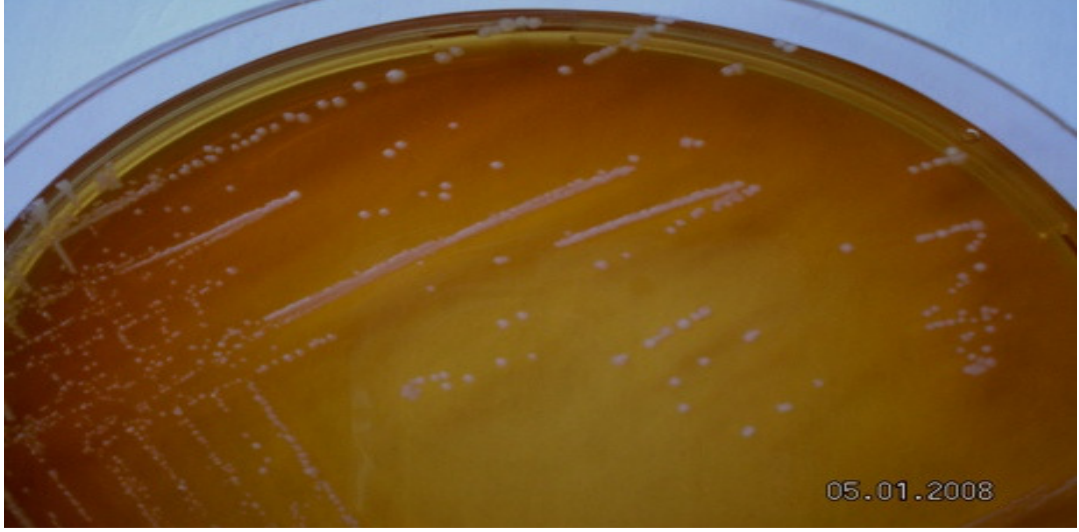
+: Pozitif, -: Negatif, (+): Şüpheli pozitif, (-): Şüpheli negatif

Tablo 4.8. LAB İzole Edilen Numune Bazında İzolasyon Çalışmasının Ayrıntıları

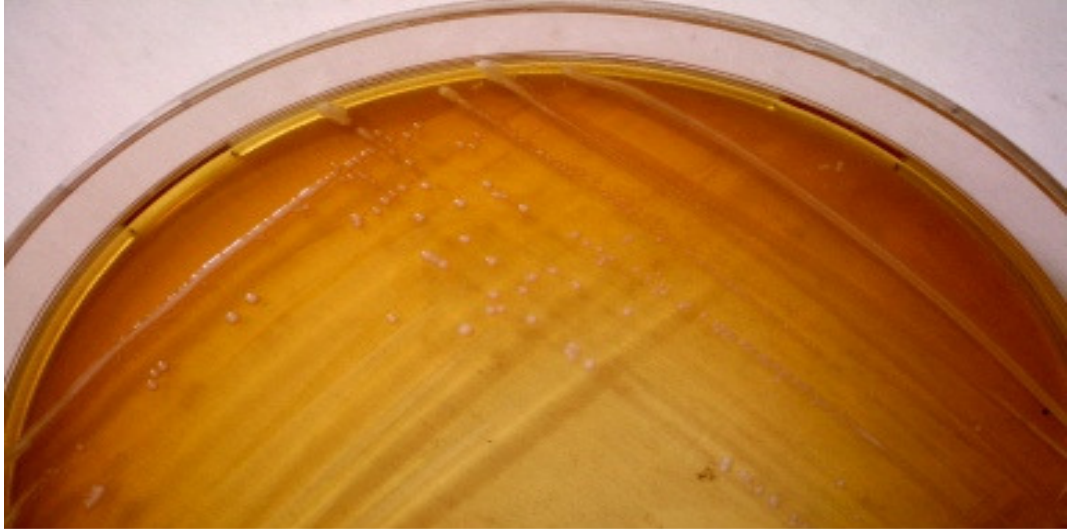
LAB İzole Edilen Numune Kodu	İzolat Elde Edilen Besiyeri ve Dilüsyon	İzolat Sayısı ve Türü	İzolat Kodları
G1	M17 (10 ⁻⁴), MRS (10 ⁻⁴)	2 (<i>Lb. plantarum</i>)	L1, L2
G2	M17 (10 ⁻⁴), MRS (10 ⁻⁴)	2 (<i>Lb. plantarum</i>)	L3, L4
G3	M17 (10 ⁻⁴) M17 (10 ⁻⁴), MRS (10 ⁻⁴)	1 (<i>Lb. plantarum</i>) 2 (<i>Lb. buchneri</i>)	L5, L15, L16
G4	M17 (10 ⁻³), MRS (10 ⁻³) MRS (10 ⁻³)	2 (<i>Lb. plantarum</i>) 1 (<i>Pediococcus</i> spp.)	L6, L7, L19
G5	MRS (10 ⁻⁴)	1 (<i>Pediococcus</i> spp.)	L20
G6	MRS (10 ⁻⁴) M17 (10 ⁻⁴)	1 (<i>Lb. brevis</i>) 1 (<i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>)	L11, L21
G7	M17 (10 ⁻³), MRS (10 ⁻³) MRS (10 ⁻³)	2 (<i>Lb. plantarum</i>) 1 (<i>Lb. brevis</i>)	L8, L9, L12
G8	M17 (10 ⁻⁴) M17 (10 ⁻⁴), MRS (10 ⁻⁴)	1 (<i>Lb. plantarum</i>) 2 (<i>Lb. brevis</i>)	L10, L13, L14
G9	M17 (10 ⁻⁴), MRS (10 ⁻⁴)	2 (<i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i>)	L17, L18

Tablo 4.9. İzolatların Dağılımı

İzolatlar	Adet	% Oran
<i>Lb. plantarum</i>	10	47.62
<i>Lb. brevis</i>	4	19.05
<i>Lb. buchneri</i>	2	9.52
<i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i>	2	9.52
<i>Pediococcus</i> spp.	2	9.52
<i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	1	4.76



Şekil 4.1. MRS Besiyerinde *Lb. plantarum* Kolonileri



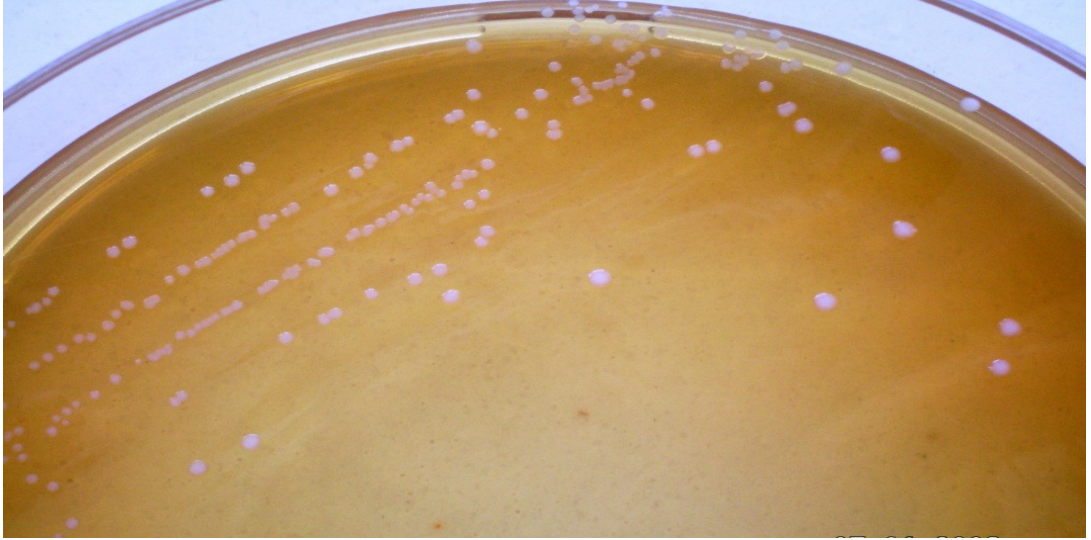
Şekil 4.2. MRS Besiyerinde *Lb. brevis* Kolonileri



Şekil 4.3. MRS Besiyerinde *Lb. buchneri* Kolonileri



Şekil 4.4. MRS Besiyerinde *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* Kolonileri



Şekil 4.5. MRS Besiyerinde *Pediococcus* spp. Kolonileri



Şekil 4.6. MRS Besiyerinde *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii* Kolonileri



Şekil 4.7. API 50 CHL Testi Uygulanan İzolatın İnkübasyon Sonrasındaki Fotoğrafi
(*Lb. plantarum* olarak tanımlanan izolata ait)



Şekil 4.8. API 50 CHL Testi Uygulanan İzolatın İnkübasyon Sonrasındaki Fotoğrafi
(*Lb. brevis* olarak tanımlanan izolata ait)



Şekil 4.9. API 50 CHL Testi Uygulanan İzolatın İnkübasyon Sonrasındaki Fotoğrafi
(*Lb. buchneri* olarak tanımlanan izolata ait)



Şekil 4.10. API 50 CHL Testi Uygulanan İzolatın İnkübasyon Sonrasındaki Fotoğrafi
(*Lb. paracasei* ssp. *paracasei* olarak tanımlanan izolata ait)



Şekil 4.11. API 50 CHL Testi Uygulanan İzolatın İnkübasyon Sonrasındaki Fotoğrafi
(*Pediococcus* spp. olarak tanımlanan izolata ait)



Şekil 4.12. API 50 CHL Testi Uygulanan İzolatın İnkübasyon Sonrasındaki Fotoğrafi
(*Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii* olarak tanımlanan izolata ait)

4.3. İzolat Seçimi İçin Yapılan Çalışmalar

Araştırmanın son aşamasında, elde edilen 21 izolatın, endüstriyel fermente gilaburu suyu üretiminde kullanma olanaklarını belirlemeye yönelik laboratuvar şartlarında deneme üretimleri yapmak üzere, antibakteriyel aktiviteleri, asit ve hidrojen sülfür üretme yetenekleri test edilmiştir.

4.3.1. İzolatların Antibakteriyel Aktivitelerinin Test Edilmesi

İzolatların seçilen *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* test bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitelerini belirlemek amacıyla agar disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. İki paralel olarak yürütülen çalışmada, izolatların test bakterilerine karşı oluşturduğu inhibisyon zonu çapları (d), inhibisyon etki ile orantılı olarak yorumlanmış ve $d \leq 8$ mm zayıf etki (+), $9 \text{ mm} < d \leq 13 \text{ mm}$ orta etki (++) , $d \geq 14 \text{ mm}$ ise güçlü etki (+++) olarak değerlendirilmiştir. Tablo 4.10'dan görüldüğü gibi, izolatların hepsi test bakterilerine karşı inhibisyon sergilemiştir. *E. coli*'ye karşı en yüksek inhibisyonu gösteren *Lb. plantarum* olarak tanımlanan L2 ve L7 izolatları olurken en düşük inhibisyonu, *Lb. buchneri* olarak tanımlanan L15 izolatı göstermiştir. *L. monocytogenes*'e karşı ise en yüksek inhibisyonu, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* olarak tanımlanan L17 ve L18 izolatları gösterirken, *Lb. plantarum* olarak tanımlanan L1, L2 ve L8 ile *Pediococcus* spp. olarak tanımlanan L20 izolatı en düşük inhibisyonu göstermiştir. *Lb. brevis* olarak tanımlanan L11 izolatı, *S. aureus*'a karşı en büyük inhibisyon zonu oluştururken, *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii* olarak tanımlanan L21 izolatı en küçük zonu oluşturmuştur.

Tüm *Lb. plantarum* izolatları *E. coli*'ye karşı 11-16 mm arasında değişen, ortalama 12.95 mm, *L. monocytogenes*'e karşı 10-15 mm arasında değişen, ortalama 11.75 mm, *S. aureus*'a karşı 10-16 mm arasında değişen, ortalama 13.75 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. Bu sonuçlara göre, *Lb. plantarum* izolatlarının hepsi *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'a karşı orta düzeyde antibakteriyel aktivite göstermiştir.

Lb. brevis izolatları *E. coli*'ye karşı ortalama 14 mm, *S. aureus*'a karşı ortalama 15.375 mm yani güçlü inhibisyon etki oluştururken, *L. monocytogenes*'e karşı ortalama 13.25 mm inhibisyon zonu meydana getirmiştir.

Tablo 4.10. İzolatların Antibakteriyel Aktivite Test Sonuçları

İzolat Kodu	Test Bakterileri					
	<i>E. coli</i>		<i>L. monocytogenes</i>		<i>S. aureus</i>	
	d _{ORT}	ED	d _{ORT}	ED	d _{ORT}	ED
L1	12	++	10.5	++	13	++
L2	15.5	+++	10.5	++	15	+++
L3	14	+++	11.5	++	12	++
L4	10.5	++	11.5	++	14.5	+++
L5	12	++	11.5	++	12.5	++
L6	14	+++	14.5	+++	14	+++
L7	15.5	+++	15	+++	16	+++
L8	11.5	++	10.5	++	11.5	++
L9	12.5	++	11	++	17	+++
L10	12	++	11	++	12	++
L11	15	+++	13	++	17.5	+++
L12	14.5	+++	12.5	++	17	+++
L13	12.5	++	14	+++	13	++
L14	14	+++	13.5	++	14	+++
L15	8	+	15	+++	9.5	++
L16	8.5	++	15	+++	11.5	++
L17	14.5	+++	15	+++	11.5	++
L18	13.5	++	15	+++	12.5	++
L19	15	+++	12	++	11	++
L20	13	++	10.5	++	11	++
L21	10	++	11	++	7.5	+

d_{ORT}: Test bakterilerine karşı izolatların oluşturduğu ortalama inhibisyon çapları, mm

ED: İzolatların antibakteriyel etki düzeyleri (+ zayıf, ++ orta, +++ güçlü)

Lb. buchneri izolatları, *E. coli*'ye karşı ortalama 8.25 mm inhibisyon zonu oluşturarak zayıf, *L. monocytogenes*'e karşı ortalama 15 mm inhibisyon zonu oluşturarak güçlü ve *S. aureus*'a karşı 10.5 mm inhibisyon zonu oluşturarak orta düzeyde bir antibakteriyel etki göstermiştir.

E. coli ve *L. monocytogenes*'e karşı sırasıyla ortalama 14 mm ve 15 mm inhibisyon zonu oluşturarak güçlü antibakteriyel etki gösteren *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* izolatları, *S. aureus*'a karşı ortalama 12 mm inhibisyon zonu ile zayıf antibakteriyel etki göstermiştir.

Pediococcus spp. izolatları *E. coli*'ye karşı ortalama 14 mm inhibisyon zonu oluşturarak güçlü, *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'a ise sırasıyla 11.25 mm ve 11 mm inhibisyon zonu vererek orta düzeyde antibakteriyel etki göstermiştir.

Çalışma sürecinde elde edilen 1 adet *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii* izolatu *E. coli* ve *L. monocytogenes*'e karşı orta, *S. aureus*'a karşı ise zayıf antibakteriyel etki oluşturmuştur.

4.3.2. İzolatların Asit Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi

Geleneksel yöntemle fermente edilen gilaburu numunelerinden elde edilen 21 izolatın asit üretme yetenekleri, MRS sıvı besiyerine inokülasyonlarını takip eden $30\pm 1^\circ\text{C}$ 'deki inkübasyon sürecinde 3, 6, 18 ve 24 saat sonunda pH ölçümleri yapılarak ortaya konmuştur (Tablo 4.11).

Lb. plantarum izolatları, kültür ortamı pH'sını başlangıç 5.55-6.00 arası değerlerden 4.35-4.73 arası değerlere düşürmüştür. Tablo 4.11'de görüldüğü gibi, en fazla pH düşüşü, L7 kodlu *Lb. plantarum* izolatında gerçekleşmiştir.

Lb. brevis izolatları arasında en yüksek asit üretme yeteneğini, 24 saatlik inkübasyon sonunda L13 kodlu *Lb. brevis* izolatu göstermiştir.

Hem tüm diğer izolatlarla hem de diğer aynı tür izolatla kıyaslandığında en yüksek asit üretme yeteneğini, L16 kodlu *Lb. buchneri* izolatu göstermiştir.

Lb. paracasei ssp. *paracasei* izolatları, 24 saat sonunda pH'yı 5.60 başlangıç değerinden 4.68-4.70 değerlerine düşürmüştür.

Pediococcus spp. olarak tanımlanan izolatların, kültür ortamı pH'sını 24 saat sonra 5.57-5.60 değerlerinden 4.88-4.92 arası değerlerine düşürdüğü görülmüştür.

Diğer tüm izolatlarla kıyaslandığında en düşük asit üretme yeteneğine, L21 kodlu *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii* izolatının sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.11. İzolatların Asit Üretme Yetenekleri Test Sonuçları

İzolat Kodu	İnkübasyon Sürecindeki pH Değerleri			
	3 saat sonra	6 saat sonra	18 saat sonra	24 saat sonra
L1	5.58	5.54	5.46	4.71
L2	5.55	5.50	5.40	4.65
L3	5.56	5.52	5.44	4.73
L4	5.56	5.50	5.35	4.40
L5	5.58	5.53	5.42	4.45
L6	5.56	5.51	5.35	4.38
L7	5.55	5.49	5.34	4.35
L8	6.00	5.54	5.37	4.42
L9	5.57	5.48	5.39	4.46
L10	5.57	5.49	5.36	4.40
L11	5.47	5.34	4.52	4.18
L12	5.45	5.29	4.50	4.15
L13	5.46	5.21	4.40	4.00
L14	5.44	5.20	4.48	4.12
L15	5.54	5.27	4.74	4.05
L16	5.50	5.21	4.18	3.90
L17	5.60	5.59	5.49	4.70
L18	5.60	5.55	5.42	4.68
L19	5.60	5.56	5.32	4.88
L20	5.57	5.52	5.29	4.92
L21	6.01	5.96	5.88	5.75

4.3.3. İzolatların Hidrojen Sülfür Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi

İzolatların hidrojen sülfür üretme durumları, Triple Sugar Iron Agar besiyerindeki kültürlerin 2 haftalık inkübasyonları sonunda besiyeri rengi incelenerek değerlendirilmiştir. İzolatlardan hiçbiri, hidrojen sülfür üretmemiştir.

4.4. Fermente Gilaburu Suyu Üretmek Üzere İzolatların Seçimi

İzolatlara uygulanan testler (antibakteriyel aktivite testleri, asit üretme yetenek testleri, hidrojen sülfür üretme yetenek testleri) ve geleneksel fermente gilaburu numunelerine uygulanan duyuşal panel dikkate alınarak, laboratuvar şartlarında fermente gilaburu numuneleri üretiminde kullanmak üzere 7 farklı izolat veya izolat kombinasyonu

belirlenmiştir. Deneme üretimlerinde kullanılmak üzere belirlenen 6 izolatin test bakterilerine karşı gösterdiği inhibisyon etki ve asit üretme yetenekleri, Şekil 5.2’de gösterilmiştir:

1. Deneme Numunesi (T1) İçin: L7 (*Lb. plantarum*) izolatu
2. Deneme Numunesi (T2) İçin: L13 (*Lb. brevis*) izolatu
3. Deneme Numunesi (T3) İçin: L18 (*Lb. paracasei* ssp. *paracasei*) izolatu
4. Deneme Numunesi (T4) İçin: L7+L13 (*Lb. plantarum*+*Lb. brevis*) izolat kombinasyonu
5. Deneme Numunesi (T5) İçin: L7+L16 (*Lb. plantarum*+*Lb. buchneri*) izolat kombinasyonu
6. Deneme Numunesi (T6) İçin: L7+L19 (*Lb. plantarum*+*Pediococcus* spp.) izolat kombinasyonu
7. Deneme Numunesi (T7) İçin: L7+L13+L16+L18+L19+L21 (*Lb. plantarum*+*Lb. brevis*+*Lb. buchneri*+*Lb. paracasei* ssp. *paracasei*+*Pediococcus* spp.+*Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii*) izolat kombinasyonu

4.5. Seçilen İzolatlar Kullanılarak Fermente Gilaburu Suyu Üretme Denemeleri

Seçilen izolatlar, 3.3.6’da anlatıldığı şekilde kullanılarak laboratuvar şartlarında 7 farklı fermente gilaburu suyu numunesi üretimi denenmiştir. Üretimi takiben, deneme numuneleri ve deneme numunelerinde kullanılan ticari pastörize gilaburu nektarı 10 gün buzdolabı ortamında muhafaza edildikten sonra pH, asitlik, indirgen şeker, protein, kül, ham selüloz, yağ, etil alkol, askorbik asit ve toplam fenolik miktarı analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçları, Tablo 4.4’de verilmiştir.

Test numuneleri içindeki LAB yükü ise, 10 günlük soğukta muhafaza işlemi sonrası 3.3.3’de anlatılan yöntemle tespit edilmiştir. Bu sonuçlar da Tablo 4.12’de gösterilmiştir.

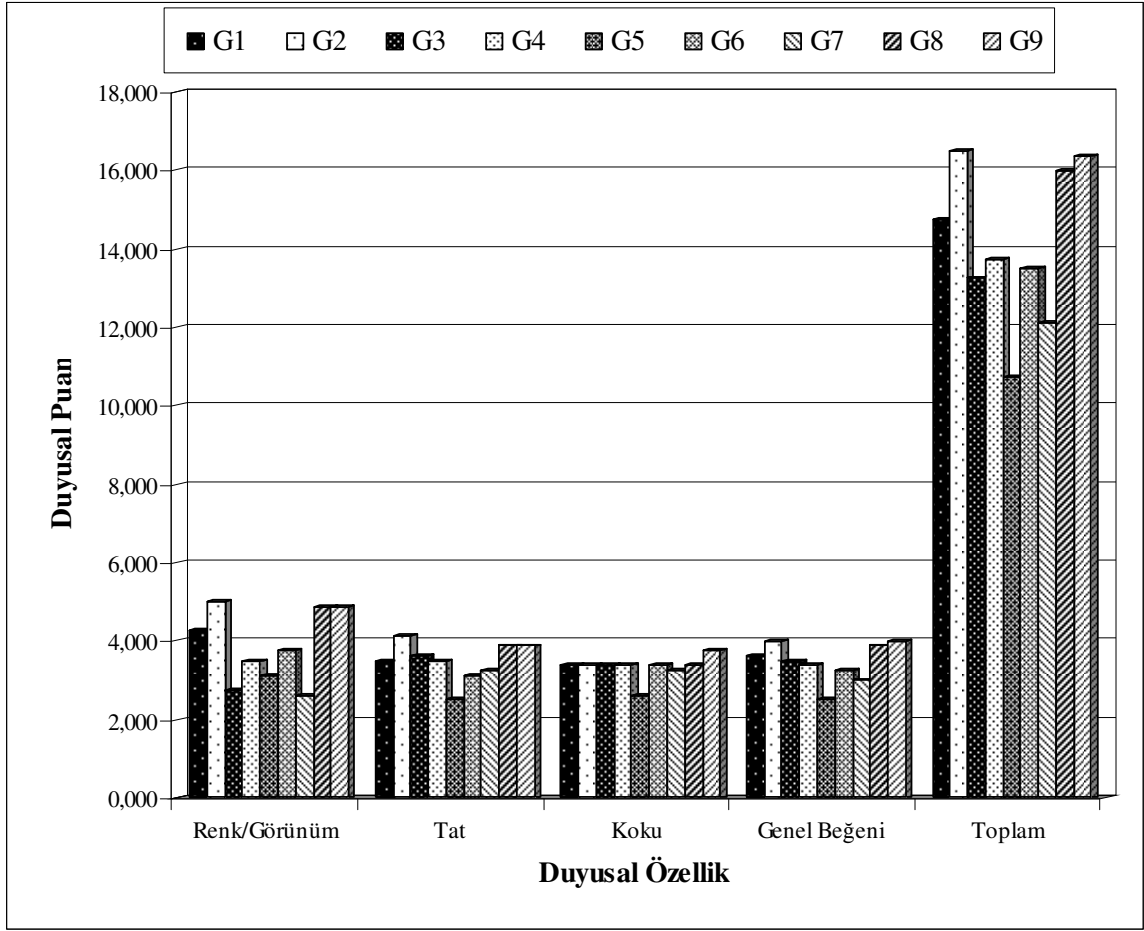
Tablo 4.12. Buzdolabı Şartlarında 10 Gün Muhafaza Edilen Test Numunelerindeki LAB Yükleri*

Test Numuneleri	LAB Sayısı (log kob/ml)
T1	7.64 ^a ±0.02
T2	7.56 ^a ±0.01
T3	7.65 ^a ±0.01
T4	7.32 ^b ±0.04
T5	7.15 ^c ±0.02
T6	6.39 ^c ±0.03
T7	6.63 ^d ±0.02

*: Ortalama±standart sapma; a-e: Farklı harfler, aynı sütun için veriler arası istatistiksel fark olduğunu göstermektedir (p<0.05).

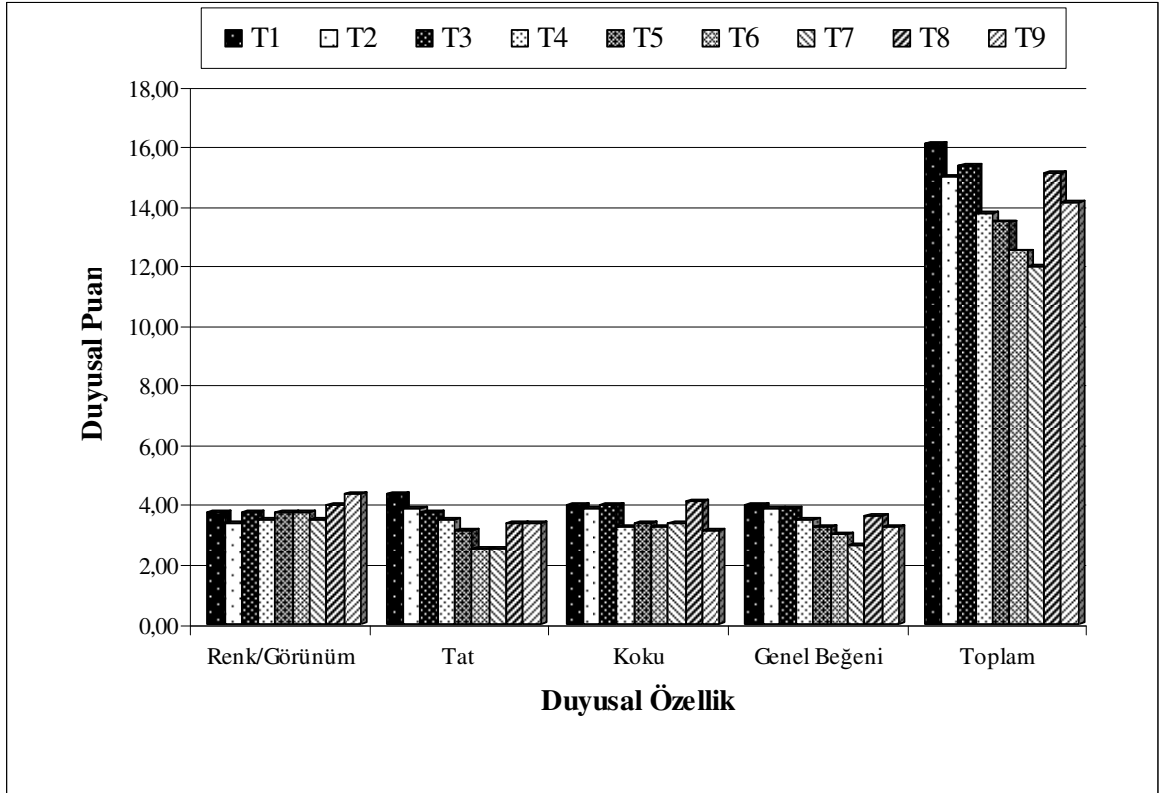
4.6. Duyusal Analizler

Çalışmada kullanılan 9 adet geleneksel fermente gilaburu suyu numunesi için yapılan birinci duyusal analiz sonuçları Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Bu grafikten de anlaşıldığı gibi, renk/görünüm parametresi, tat, genel beğeni ve toplamda en fazla puan alan numune, Gesi'den temin edilen gilaburu meyvelerinin geleneksel fermentasyonu sonucu elde edilen ve çalışma sürecinde G2 kodu ile anılan meyve suyu olmuştur. Bunu toplam duyusal puanda G9, G8, G1, G4, G6, G3, G7 ve G5 numuneleri izlemiştir. İstatistiksel verilere göre, geleneksel fermente numunelerde yapılan duyusal panelde koku dışındaki diğer parametreler (renk/görünüm, tat, koku, genel beğeni) için numuneler arasındaki fark önemli (p<0.05) bulunmuştur. Bu duyusal analiz sonucuna göre, ikinci duyusal analizde geleneksel fermente gilaburu suyu olarak panelistlere G2 numunesi verilmiştir.



Şekil 4.13. Geleneksel Fermente Gilaburu Suyunda Yapılan Birinci Duyusal Analiz Sonuçları

Ayrıca, izole kültürlerle üretilen 7 deneme üretimi numunesi, ticari pastörize gilaburu nektarı ve geleneksel fermente numuneler arasında yapılan duyusal analizde en fazla puan alan G2 meyve suyundan oluşan toplam 9 numune için ikinci duyusal analiz gerçekleştirilmiştir. Bu duyusal analizde, panelistlerin duyusal özelliklere verdikleri puanların ortalaması da Şekil 4.14'te verilmiştir. Grafikten de anlaşıldığı gibi, tat ve genel beğeni parametrelerinde ve toplamda en yüksek puanları L7 kodlu *Lb. plantarum* izolatını içeren T1 test numunesi almıştır. Bunu toplam duyusal puanda L18 kodlu *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* izolatını içeren T3 test numunesi, ticari pastörize ürün olan T8 kodlu numune ve geleneksel yöntemle fermente edilen gilaburu suyunu temsil eden T9 kodlu numune izlemiştir. Koku parametresinde ise, en yüksek puanı ticari pastörize ürün alırken, en düşük puanı geleneksel fermente numune almıştır. Bu duyusal analizde, istatistiksel olarak numuneler arasındaki fark, renk/görünüm ve koku parametreleri için önemsiz ($p>0.05$), tat ve genel beğeni parametreleri için önemli ($p<0.05$) olarak bulunmuştur.



Şekil 4.14. İzolatlarla Üretilen Gilaburu Sularında Yapılan İkinci Duyusal Analiz Sonuçları

5. BÖLÜM

SONUÇ VE YORUM

Gilaburu suyu, ülkemize has, insan sağlığı üzerine etkileri tecrübe edilmiş, hakkında fazlaca bilimsel çalışma bulunmayan bir üründür. Hakkında yapılan araştırmalar da sadece taze meyve veya suyunun fizikokimyasal özellikleri ile ilgilidir. Oysa geleneksel gilaburu suyu, elde edilmeden önce yapılan fermentasyondan dolayı, birtakım LAB de içermektedir ki, bulunduğu ortamın yüksek asit içeriğinden dolayı muhtemelen bunların birçoğu probiyotik karakterlidir.

Bugüne kadar gilaburu meyvesinde, çekirdeğinde, kurutulmuş meyve ekstraktında, fiziksel ve kimyasal bazı parametrelerin analiz edildiği çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak gilaburu meyvesinde mikrobiyolojik çalışma yapan ve geleneksel fermente üründe fermentasyon etmenlerini tanımlayan herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Bu nedenle, mevcut çalışma, kapsamı göz önüne alındığında ilk olma özelliğindedir.

Bu çalışmada, 9 farklı bölgeden temin edilen hem taze gilaburu suyu numunelerinde hem de 4 ay geleneksel yöntemle fermente edilen meyve suyu numunelerinde briks, pH, asitlik, indirgen şeker, protein, kül, ham selüloz, yağ, etil alkol, askorbik asit ve toplam fenolik miktarı tespit edilmiştir (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2). Bolat ve Özcan [4], Konya'da yetişen bir gilaburu bitkisinin meyvelerini 5 ay süreyle çeşme suyu içinde fermentasyona bırakmışlar ve fermentasyon döneminin başında, ortasında ve sonunda bu parametrelerin bazılarını çalışmışlardır. Bizim çalışmamızda, taze meyvede tespit edilem ortalama pH değerleri (3.30), sözü edilen araştırmada tespit edilen pH değerine (3.24) yakındır. Numunelerin çözünür katı maddesinin, refraktometrik metot yerine $105\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 3 saat etüvde bekletilerek belirlendiği araştırmada, mevcut çalışmanın ortalama değerleri altında veriler elde edilmiştir. Titrasyon asitliğinin tartarik asit olarak saptandığı bu araştırma sonucunda, fermentasyon ortasında azalma, sonunda tekrar başlangıç değerine yükselme kaydedilmiş ve % ham protein, % kül, % ham selüloz, %

yağ değerleri belirgin bir şekilde bulgularımızdan farklı tespit edilmiştir. Numunelerde fermentasyon sürecinde kaydedilen % indirgen şeker (5.83, 4.43, 3.97) ve mg/kg askorbik asit miktarları (560, 380, 362) ise, mevcut çalışma verilerine yakın bulunmuştur.

Kayseri'nin 5 farklı bölgesine ait gilaburu meyvelerini 3 ay çeşme suyu içinde beklettikten sonra analize alan Soylak ve ark. [5], meyve suyu numunelerinde, araştırma sonuçlarımızdan (Tablo 4.3) ortalamada daha yüksek (2.8-3.1 arasında) pH ve benzer (308-661 mg/l arasında) askorbik asit değerleri belirlemiştir.

Gilaburu meyvesinin bazı kimyasal özelliklerini tespit eden Akbulut ve ark. [12], araştırmada kullandıkları numunede, mevcut çalışmada taze meyve suyu numunelerinde tespit edilen ortalama indirgen şeker, ham yağ ve askorbik asite yakın veriler elde etmekle beraber, asitlik, toplam fenolik, protein, ham selüloz ve kül verileri, mevcut çalışmamızda elde edilenlerden farklıdır. Taze gilaburu suyunda ortalama 534.42 mg GAE/100 ml olarak tespit edilen toplam fenolik madde miktarı (Tablo 4.3), Velioğlu ve ark. [9] tarafından 590.3 mg/100 ml, Elmastaş ve Gerçekçioğlu [13] tarafından ise, 22.9 µg bulunmuştur. Çam'a ait bir çalışmada [10], gilaburuda askorbik asit 73.6 mg/100 g olarak kaydedilirken, Çam ve ark.'nın çalışmasında [11], gilaburu meyve etinde askorbik asit 52.7 mg/100 g, toplam fenolik madde 355.59 mg GAE/100 g olarak bildirilmiştir.

Gilaburu meyvesi ile yapılan bütün bu çalışmalarda, çeşitli fizikokimyasal özellikler için farklı veriler elde edilmesi, muhtemelen numunelerin analize alınan kısımlarının (meyve eti, kabuğu, çekirdeği vs.) değişmesinden, analiz öncesi numuneye uygulanan işlemlerden (ekstraksiyon, süzme gibi), analizin taze meyve ya da değişik süreler fermente edilmiş meyvelerde yapılmasından ve standart olmayan metotların kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, gilaburu meyvelerinin yetiştiği bitkinin bulunduğu bölge, yetiştirme şartları ve hasat edildiği dönemler, analiz sonuçlarına yansıyan önemli faktörlerdendir. Bu faktörlerin gilaburu suyu numunelerinin fizikokimyasal özelliklerine etkisi, araştırmamızda 9 farklı bölgeden temin edilen numunelerde gösterilmiştir. Ayrıca araştırmamızda kaynağı aynı olan meyve suyu numunelerinin fizikokimyasal özelliklerine 4 aylık fermentasyonun etkisi de tespit edilmiştir.

Çalışma bulguları, fermentasyonla birlikte meyve suyu numunelerinin briks, pH, asitlik, indirgen şeker, protein, kül, ham selüloz, yağ ve askorbik asit değerlerinin beklenildiği gibi düştüğünü ortaya koymuştur (Tablo 4.2). Bunun yanında, taze meyve suyu numunelerinin hiçbirinde etil alkol tespit edilemezken, fermente numunelerin hepsinde 0.6588-6.1176 g/l arası etil alkol saptanmış ve bu parametre için numuneler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca, fermente numunelerde toplam fenolik madde miktarlarının taze numunelere göre daha yüksek bulunması dikkat çekicidir. Bunun sebebinin fermentasyon etmeni mikroorganizmalar olduğu ve hem taze hem de fermentasyon etmenleri bilinen bir seri fermente numunede toplam fenolik madde yanında fenolik bileşenlerin ayrı ayrı analiz edilmesinin, bu durumun izahında yararlı olacağı düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışmada, biri ticari pastörize gilaburu nektarı olmak üzere, bu pastörize gilaburu suyuna, izole edilen LAB'nin aşılması ile laboratuvar şartlarında üretilen 7 test numunesiyle beraber toplam 8 adet numune, 10 gün süreyle buzdolabında depolanmıştır. Daha sonra bu 8 numunenin çözünür katı madde, pH, asitlik, indirgen şeker, protein, kül, ham selüloz, yağ, etil alkol, askorbik asit ve toplam fenolik miktarları tespit edilmiştir. pH, asitlik, indirgen şeker, protein, etil alkol, askorbik asit ve toplam fenolik değerleri için numuneler arasındaki farklılıkların, test numunelerinde kullanılan LAB izolatlarının türü, inokülasyon miktarı, fermentasyon için belirlenen inkübasyon süresi yanında, ürünlerin depolama sıcaklık ve süresine de bağlı olabileceği tahmin edilmektedir. Bütün bu olası değişkenlerin ürün üzerindeki etkilerini tanımlamak, farklı üretim proseslerinin ve depolama şartlarının, bu fizikokimyasal parametrelere karşı analiz edilmesi ile mümkün olabilecektir.

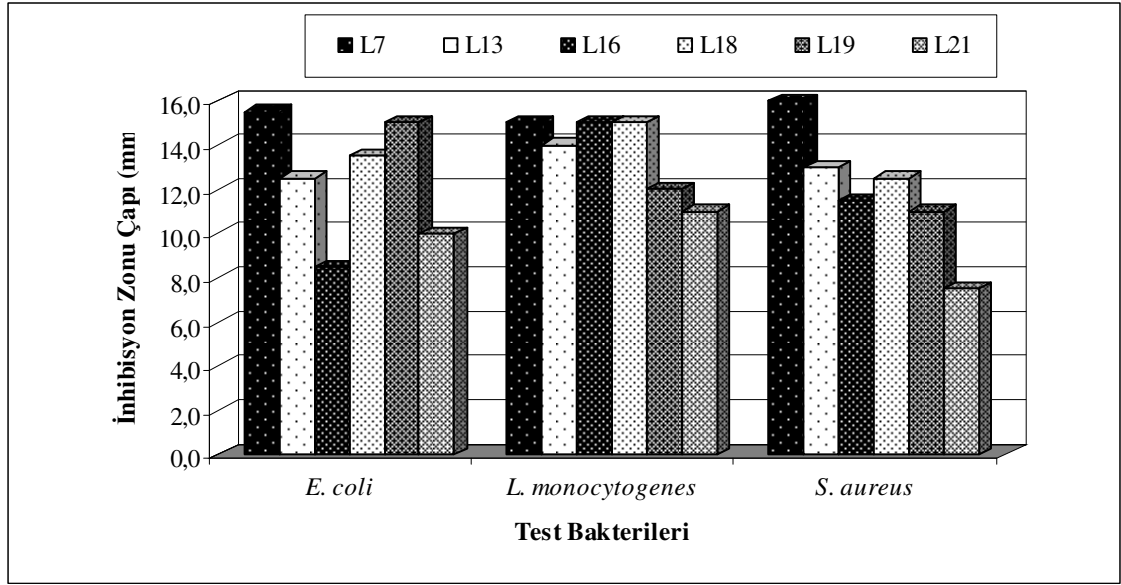
Bu çalışmanın önemli diğer bir bulgusu, gilaburu meyvesinin yaygın tüketim şekli olan geleneksel fermentasyon işleminin, numunelerin mikrobiyolojik özelliklerine etkisini ortaya koymuş olmasıdır. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'nin Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde (Tebliğ No:2001/19) meyve suları, en fazla 1×10^4 kob/ml mezofilik aerobik bakteri ve 1×10^3 kob/ml küf-maya ile sınırlandırılmakta ve koliform bakteri bulunması istenmemektedir. Halk arasında yaygın olan üretim şekline uygun olarak, araştırmamızda 9 farklı yöreden sağlanan meyvelerle hazırlanan geleneksel fermente gilaburu numunelerinde yapılan toplam mezofilik aerobik bakteri, koliform, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, küf ve maya analizleri, numunelerin tamamının, mezofilik aerobik bakteri ve maya açısından, ayrıca ikisinin koliform bakteri açısından tebliğe uygun

olmadığını ortaya koymuştur (Tablo 4.5). Bu sonuçlar, standart fermente ürün üretme olanaklarının araştırılmasının gerekliliğini ve önemini göstermektedir.

Bu çalışmanın en önemli ve özgün bulgusu ise, 9 adet geleneksel fermente gilaburu numunesinden 6 farklı LAB türünden (*Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei*, *Pediococcus* spp. ve *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii*) oluşan toplam 21 LAB'nin izole edilmiş olmasıdır. Bugüne kadar, fermente gilaburu meyvelerinde bu amaçla bir araştırma yapılmamakla birlikte bu mikroorganizmalar, bitkisel orijinli çeşitli fermente ürünlerden izole edilmiştir. Bu izolatların düşük pH'ya sahip numunelerden izole edilmeleri, asit üretim yeteneklerinin iyi olması, antimikrobiyal aktivite göstermeleri ve hidrojen sülfür üretimlerinin bulunmaması, birçoğunun probiyotik özelliklere sahip olabileceğini düşündürmektedir.

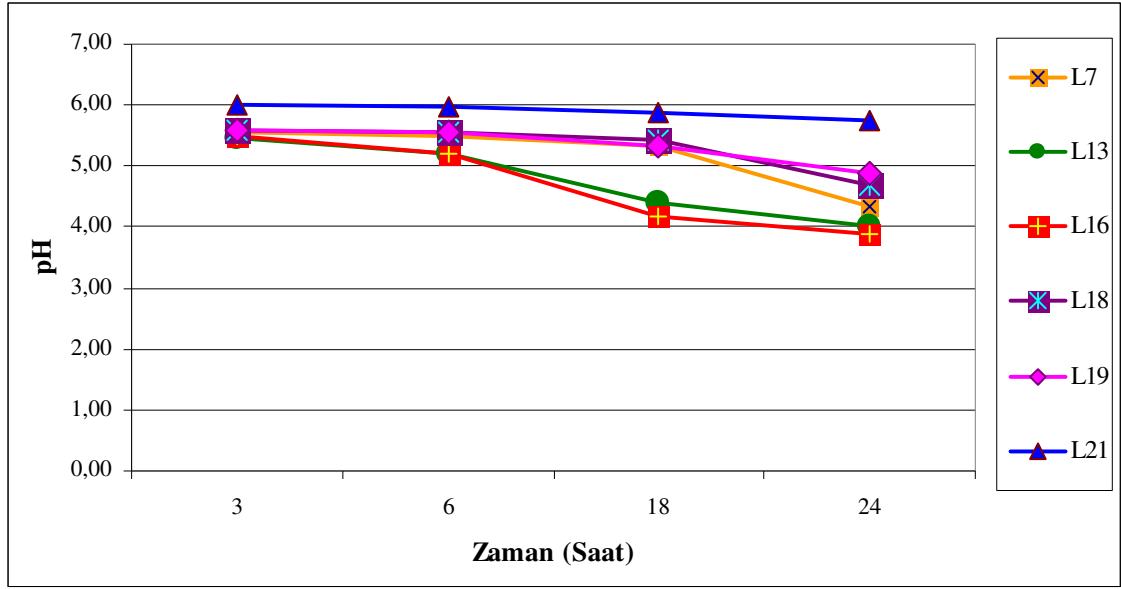
Arıcı ve Coşkun [49], kırmızı üzüm veya üzüm suyundan üretilen Trakya'ya özgü geleneksel hardaliye içeceğinde, LAB izole etmişler ve 48 izolatin 15'ini *Lb. paracasei* ssp. *paracasei*, 15'ini *Lb. casei* ssp. *pseudoplantarum*, 6'sını *Lb. pontis*, 3'er tanesini *Lb. brevis*, *Lb. acetotolerans*, *Lb. sanfransisco* ve *Lb. vaccinostercus* olarak tanımlamışlardır. Geleneksel yöntemle 4 ay fermente edilen gilaburu meyvelerinden izole ettiğimiz LAB'nin 2'si (*Lb. paracasei* ssp. *paracasei* ve *Lb. brevis*), hardaliyeden de izole edilmiştir. Başka bir çalışmada [50] ise, bu izolatlardan seçilen starter kültürler ve hardal tohumları değişken olarak kullanılmak üzere pastörize üzüm suyundan modifiye yöntemle hardaliye üretimi denenmiş ve 7 günlük fermentasyon sürecinde pH, toplam şeker ve LAB sayıları izlenmiştir.

Bu çalışmada, yukarda sözü edilen çalışmalardan farklı olarak, izole edilen LAB, laboratuvar şartlarında üretilen fermente gilaburu suyunda kullanılmadan önce bazı testlere tabi tutulmuştur. İzolatlara uygulanan testlerden biri, *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel aktivite testi olmuştur. Seçilen izolatların test bakterilerine karşı gösterdiği inhibitör etki, Şekil 5.1'de görülmektedir. Aynı LAB türleri arasında yapılan karşılaştırmada en büyük inhibisyon zonu oluşturan izolat *Lb. plantarum* izolatları arasında L7, *Lb. brevis* izolatları arasında L11, *Lb. buchneri* izolatları arasında L16, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* izolatları arasında L18, *Pediococcus* spp. izolatları arasında L19 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 5.1. Seçilen İzolatların Antibakteriyel Aktiviteleri

İzolat seçimi için uygulanan ikinci test, izolatların kültür ortamı pH'sını inkübasyon sürecinde düşürmeleri izlenerek yapılan asit üretme yetenekleri testidir. İzolatların zamana karşı pH'yı düşürme etkileri, Şekil 5.2'de grafik halinde verilmiştir. İnkübasyon başlangıcından itibaren 3, 6, 18 ve 24 saat sonra ölçülen pH değerlerinden en düşükleri dikkate alınarak her LAB türünden bir izolat (L7, L13, L16, L18, L19) belirlenmiştir. Tüm izolatların kültür ortamı pH'sını düşürdüğü görülürken, en yüksek asit üretme yeteneğinde olan izolat, kültür ortamı pH'sını 5.9 değerinden 3.9'a kadar düşüren L16 kodlu *Lb. buchneri* izolatı olarak tespit edilmiştir. Bu durum, probiyotik ürün için önemli bir özellik olarak değerlendirilmektedir. İzolatlara uygulanan diğer bir test, izolatların gelişme ortamlarında olumsuz duyuşsal özelliklere neden olan hidrojen sülfür üretme yeteneklerinin incelenmesi olmuş ve hiçbir izolatın bu özelliği taşımadığı ortaya konmuştur. İzolat seçiminde dikkate alınan bu üç test, çalışmada elde edilen izolatların probiyotik özelliklerinin kanıtı için asgari parametreler olarak yorumlanmıştır.



Şekil 5.2. Seçilen İzolatların Asit Üretme Yetenekleri

LAB'nin probiyotik özelliklerini kanıtlamak üzere antibakteriyel aktivite, asit ve hidrojen sülfür üretme yeteneklerinin test edildiği farklı materyal ve yöntemlerin kullanıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların birinde [39], *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. buchnerii*, *P. dextrinicus* ve *P. parvulus* türlerini içeren, taze meyve ve sebze numunelerinden elde edilen izolatlar dahil birçok LAB kültürünün antibakteriyel aktivitesi, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. typhimurium* ve *S. aureus* test bakterilerine karşı incelenmiştir. LAB ve patojen bakteriler, elma bereleri ve marul kesikleri üzerinde geliştirilmiş ve tüm kültürlerin *L. monocytogenes* popülasyonunu belirgin bir şekilde düşürdüğü gözlenmiş ve ayrıca, tüm LAB kültürlerinin taze meyve ve sebzelerin raf ömrünü uzatmak için etkili oldukları ve biyokoruyucu olarak kullanılabileceği yorumu yapılmıştır. Agar disk difüzyon yönteminin kullanıldığı bir araştırmada [40], mevcut çalışmamızdaki izolat türlerinden olan *Lb. brevis* ve *Lb. plantarum*'un antifungal aktivitesi kanıtlanmıştır. Başka bir çalışma [20], fermente yulaf lapasından izole edilen LAB'nin büyük bölümünü oluşturan *Lb. plantarum* izolatlarının bakteriyosin üreten gen varlığına sahip olduklarını ortaya koymuştur.

Çalışma sonunda, seçilen izolatlardan oluşturulan kültür veya kültür kombinasyonları, laboratuvar şartlarında yapılan test üretimlerde kullanılmış ve üretim sonunda 10 gün buzdolabında muhafaza edildikten sonra canlı LAB yükleri tespit edilmiştir. Coşkun ve

Arıcı [50], yaptıkları hardaliye üretim denemesinde test numunelerindeki LAB yükünün 7 günlük fermentasyon sürecinde arttığını kaydetmişler, depolama sürecindeki değişimi analiz etmemişlerdir.

Bir ürünün probiyotik özellik taşıması için, raf ömrü boyunca gram ya da mililitrede en az 10^6 kob canlı probiyotik bakteri içermesi gerekmektedir. Bizim çalışmamızda laboratuvar şartlarında üretilen numuneler 10 gün buzdolabında bekletildikten sonra canlı LAB sayımları yapılmış ve 10^6 - 10^7 arasında canlı LAB içerdikleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlar da, geleneksel olarak fermente edilen gilaburu numunelerinden izole edilen ve tanımlanan izolatlar arasından seçilerek ticari pastörize gilaburu nektarına inoküle edilen LAB'nin tamamının 10 gün süresince canlı kalabildiğini ve endüstriyel meyve suyu üretiminde kullanılabileceğini göstermiştir. Meyve-sebze esaslı probiyotik içecek üretme olanaklarını ortaya koyan Yoon ve ark. [45-47], farklı hammadde ve 4 LAB kullanmışlardır. Domates suyunu probiyotikleştirmeyi amaçlayan çalışmada, 4 hafta soğukta muhafaza edildikten sonra *Lb. plantarum* ve *Lb. delbrueckii* kullanılan numunelerde 3.4×10^6 *Lb. plantarum* ve 8.1×10^8 *Lb. delbrueckii* sayılmıştır. Bu çalışma sonunda *Lb. plantarum*'un diğer LAB kültürlerine göre fermentasyonda en fazla asit üretimine ve en hızlı pH düşüşüne neden olduğu anlaşılmıştır. Aynı amaçla lahanaya suyu yapılan çalışmada, *Lb. plantarum* ve *Lb. delbrueckii* kullanılan numunelerde 72 saatlik fermentasyon sonunda pH'nın 5.8'den 3.6'ya düştüğü ve 4 hafta soğukta muhafaza edildikten sonra *Lb. plantarum* bulunan numunede 4.1×10^7 kob/ml, *Lb. delbrueckii* bulunan numunede 4.5×10^5 kob/ml düzeyinde canlı organizma sayıldığı kaydedilmiştir.

Mevcut çalışmamızda, yapılan duyu analizi sonuçları da, önemli bulgular ortaya koymuştur. Bu analiz sonuçları değerlendirildiğinde, tat ve genel beğeni parametrelerinde ve toplamda en yüksek puanları L7 kodlu *Lb. plantarum* izolatını içeren T1 test numunesi almıştır. Bunu toplam duyu puanında L18 kodlu *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* izolatını içeren T3 test numunesi takip etmiştir. İzolatlarla fermente edilerek üretilen gilaburu suları, pastörize ve geleneksel üretimde en çok beğenilen gilaburu sularına kıyasla daha fazla beğenilmiştir. Bu sonuç da, çalışmada izolatlarla üretilen standart fermente gilaburu suyunun tüketiciler tarafından tercih edileceği kanaatini oluşturmaktadır.

Son olarak, bu çalışma bulgularından çıkarılan önemli değerlendirmeler şu şekilde sıralanabilir:

- Fermente yiyecek ve içeceklerin ilk temeli, hammaddede doğal olarak bulunan mikrofloranın gelişmesi sonucu kendiliğinden fermentasyona dayanmaktadır. Bu durumda son ürünün kalitesi, hammaddenin mikrobiyal yüküne bağlı olarak değiştiğinden, standart kalitede bir son ürün üretmek mümkün olmamaktadır. Geleneksel yöntemlerle hazırlanan fermente ürünlerde, istenmeyen son ürün özellikleri, patojen mikroorganizma riski ya da besin kaybı oluşabilmektedir. Tüketimleri her geçen gün azalan bu ürünlerdeki fermentasyon etmenlerinin tanımlanarak endüstride kullanmak üzere starter kültür olarak seçilmesi önemlidir. Böylece kontrollü şartlarda üretilen ve standardize edilmiş endüstriyel ürünler, hem tüketiciler hem de ilgili sektör açısından yararlı bir alternatif olacaktır. Bu nedenle, gilaburu suyunun fermente bir içecek olarak standartlaşması önemlidir. Bu çalışma verilerine göre, standart fermente gilaburu suyunun üretiminin mümkün olduğu sonucuna varılmıştır.
- Son zamanlarda, hastalıkları önlemeye yardım etmek amacıyla sağlıklı diyetlere artan bir ilgi bulunmaktadır. Sağlıklı diyet söz konusu olduğunda, yeni fonksiyonel gıdalar geliştirmekle ilgili çalışmalar büyük önem kazanmaktadır ve bu kapsamda, probiyotik ve prebiyotik gıda katkıları, yoğun araştırma konularıdır. LAB tarafından üretilen fermente gıdalar bu bakterilerin probiyotik özelliklerinden dolayı son yıllarda oldukça popüler olmuşlardır. Kefir gibi fermente ürünlerin bazıları dünyaca yaygın olarak tüketilmesine rağmen, yöresel olarak üretilen binlerce ürün, sanayileşen toplumlarda kaybolup gitmektedir. Bu çalışma ile probiyotik özelliklere sahip, LAB içeren ve geleneksel bir ürünün değeri ve önemi ortaya konmuştur.
- Probiyotik özellikli LAB, süt esaslı ürünlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, laktoz intoleransı olarak bilinen sütün temel karbonhidratı olan laktozun monosakkarit bileşenleri olan glikoz ve galaktoza tamamen parçalanmaması durumu, oldukça genel bir sorundur. Laktoz intoleransı yanında süt esaslı ürünlerdeki kolestrol içeriği, fermente süt ürünleri ile ilgili iki önemli dezavantajdır. Bu nedenle süt esaslı olmayan probiyotik ürün alternatifi önemlidir.

Bu çalışmada, “probiyotik özelliklere sahip laktik asit bakterisi içeren meyve bazlı içecek” olarak nitelenebilecek yeni ve fonksiyonel bir ürün kategorisi oluşması öngörülmüştür.

- Bu çalışmada temeli oluşturulan yeni ürünün, fonksiyonel ve teknik özelliklerinin ayrıntılı olarak araştırılması, geniş katılımlı tüketicilerle testleri kullanılarak ideal ürün formülasyonları geliştirildikten sonra endüstriyel üretiminin başlatılması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- 1- Aksoy, A., Guvensan, A, Akcicek, E., Ozturk, M., “Ethnoecology of *Viburnum opulus* L.” to presented at International Symposium on Medicinal Plants: Linkages Beyond National Boundaries, Islamabad-Pakistan, 65-70, September 7-9, 2004.
- 2- Anonymus, *Viburnum opulus*-European Cranberrybush, University of Arkansas Horticulture 3103 summary sheet, http://www.uark.edu/campus-resources/cotinus/plants3_html/vibuopul.html, 2008.
- 3- Anonymus, Highbush-Cranberry, *Viburnum opulus* L. var. Americanum Ait. USDA, NRCS, National Plant Data Center, <http://Plant-Materials.nrcs.usda.gov>, 2003.
- 4- Bolat, S., Özcan, M., Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Meyvesinin Morfolojik, Fenolojik ve Pomolojik Özellikleri ile Kimyasal Bileşimi. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Çukurova Ün. Ziraat Fak. Yay. Cilt 1, 772-775, Adana, 1995.
- 5- Soylak, M., Elci, L., Saracoglu, S., Divrikli, U., Chemical analysis of fruit juice of European cranberrybush (*Viburnum opulus*) from Kayseri-Turkey, Asian Journal of Chemistry, 14 (1), 135-138, 2002.
- 6- Sagdic, O., Aksoy, A., Ozkan, G., Evaluation of the antibacterial and antioxidant potentials of cranberry (Gilaburu, *Viburnum opulus* L.) fruit extract, Acta Alimentaria, 35 (4), 487-492, 2006.
- 7- Karimova, A.R., Yunusova, S.G., Maslennikov, S.I., Galkin, E.G., Yunusov, T.S., Shereshovets, V.V. and Yunusov, M.S., Lipids, lipophilic components and biologically active fraction of *Viburnum opulus* L. seeds, Chemistry of Natural Compounds, 36 (6), 560-564, 2000.
- 8- Andreeva, T.I., Komarova, E.N., Yusubov, M.S., Korotkova, E.I., Antioxidant activity of cranberry tree (*Viburnum opulus* L.) bark extract, Pharmaceutical Chemistry Journal, 38 (10), 548-550, 2004.

- 9- Velioglu, Y.S., Ekici, L. and Poyrazoglu, E.S., Phenolic composition of European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) berries and astringency removal of its commercial juice, *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1011-1015, 2006.
- 10- Çam, M., Kayseri Bölgesi'nde Tüketilen Gilaburu (*Viburnum opulus*) Meyve Suyunun Organik Asit ve Fenolik Bileşiklerinin Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC) İle Belirlenmesi, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, İzmir, 2005.
- 11- Cam, M., Hisil, Y., Kuscu, A., Organic acid, phenolic content, and antioxidant capacity of fruit flesh and seed of *Viburnum opulus*, *Chemistry of Natural Compounds*, 43 (4), 460-461, 2007.
- 12- Akbulut, M., Calisir, S., Marakoglu, T. and Coklar, H., Chemical and technological properties of European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruits, *Asian Journal of Chemistry*, 20 (3), 1875-1885, 2008.
- 13- Elmastaş, M. ve Gerçekçioğlu, R., Bazı Üzümsü Meyve Türlerinin Antioksidan Aktiviteleri, II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Tokat, 295-298, 14-16 Eylül, 2006.
- 14- Zayachkivska, O.S., Gzhegotsky, M.R., Terletska, O.I., Lutsyk, D.A., Yaschenko, A.M., Dzhura, O.R., Influence of *Viburnum opulus* proanthocyanidins on stress-induced gastrointestinal mucosal damage, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 57 (5), 155-167, 2006.
- 15- Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H., *The Lactic Acid Bacteria, Volume 2, The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Chapman & Hall, London, 1995.
- 16- Konings, W.N., Kurpers, O.P. and Huis in't Veld, J.H.J., Proceedings of the Sixth Symposium on Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications. 19-23 September 1999, Veldhoven-The Netherlands, 1999.
- 17- Stiles, M.E. and Holzapfel, W.H., Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy, *International Journal of Food Microbiology*, 36, 1-29, 1997.

- 18- Kalantzopoulos, G., Fermented products with probiotic qualities, *Anaerobe*, 3, 185-190, 1997.
- 19- Battcock, M. and Azam-Ali, S., Fermented Fruits and Vegetables. A Global Perspective. FAO Agricultural Services Bulletin No. 134. M-17, ISBN 92-5-104226-8, 1998.
- 20- Omar, N.B., Abriouel, H., Lucas, R., Martinez-Canamero, M., Guyot, J.P., Galvez, A., Isolation of bacteriocinogenic *Lactobacillus plantarum* strains from ben saalga, a traditional fermented gruel from Burkina Faso, *International Journal of Food Microbiology*, 112, 44-50, 2006.
- 21- Leroy, F. and De Vuyst, L., Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry, *Trends in Food Science&Technology*, 15, 67-78, 2004.
- 22- Khedid, K., Faid, M., Mokhtari, A., Soulaymani, A., Zinedine, A., Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco, *Microbiological Research*, Dec 20, 2006.
- 23- Yılsay, T.Ö. ve Kurdal, E., Probiyotik Süt Ürünlerinin Beslenme ve Sağlık Üzerindeki Etkisi. Süt ve Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı (Editör: Prof. Dr. Mehmet Demirci), Tekirdağ, 2000.
- 24- Corthier, G., The Health Benefits of Probiotics, Danone Nutritopics No: 29, Route Departementale, 128, 91767 Palaiseau Cedex, France, 17 p. March 2004.
- 25- Özer, D. ve Akın, M.S., Probiyotik Fermente Süt Ürünleri ve Probiyotikler. Süt ve Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı (Editör: Prof. Dr. Mehmet Demirci), Tekirdağ, 2000.
- 26- Ross, R.P., Fitzgerald, G., Collins, K., Stanton, C., Cheese delivering biocultures-probiotic cheese, *Australian Journal of Dairy Technology*, 57 (2), 71-91, 2002.
- 27- Sullivan, A. and Nord, C.E., The place of probiotics in human intestinal infections, *Int. J. Antimicrobial Agents*, 20 (5), 313-319, 2002.

- 28- Toklu, G.Ş., Fermente Süt Ürünleri ve Probiyotikler, Gıda Bilimi ve Teknolojisi, 4 (2), 4-6, 1999.
- 29- Salminen, S. and Isolauri, E., Intestinal colonization, microbioata and probiotics, Journal of Pediatrics, November, 115-120, 2006.
- 30- Hekmat, S. and Reid, G., Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt, Nutritional Research, 26, 163-166, 2006.
- 31- Goossens, D., Jonkers, D., Russel, M., Thijs, A., Van Den Bogaard, A., Stobberingh, E., Stockbrugger, R., Survival of the probiotic, *L. plantarum* 299v and its effects on the faecal bacterial flora, with and without gastric acid inhibition. Digestive and Liver Disease, 37, 44-50, 2005.
- 32- Uchida, H., Kinoshita, H., Kawai, Y., Kitazawa, H., Miura, K., Shiiba, K., Horii, A., Kimura, K., Taketomo, N., Oda, M., Yajima, T., Saito T., Lactobacilli binding human A-antigen expressed in intestinal mucosa, Research in Microbiology, 157 (7), 659-665, 2006.
- 33- Madureira, A.R., Pereira, C.I., Truszkowska, K., Gomes, A.M., Pintado, M.E. and Malcata, F.X., Survival of probiotic bacteria in a whey cheese vector submitted to environmental conditions prevailing in the gastrointestinal tract, International Dairy Journal, 15 (6-9), 921-927, 2005.
- 34- Berman, S.H., Eichelsdoerfer, P., Yim, D., Emler, G.W., Wenner, C.A., Daily ingestion of a nutritional probiotic supplement enhances innate immune function in healthy adults, Nutritional Research, 26, 454-459, 2006.
- 35- Bujalance, C., Moreno, E., Jimenez-Valera, M., Ruiz-Bravo, A., A probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* stimulates lymphocyte responses in immunologically intact and immunocomprised mice. International Journal of Food Microbiology, 113, 28-34, 2007.
- 36- Lee, H.S., Han, S.Y., Bae, E.A., Huh, C.S., Ahn, Y.T., Lee, J.H., Kim, D.H., Lactic acid bacteria inhibit proinflammatory cytokine expression and bacterial

- glycosaminoglycan degradation activity in dextran sulfate sodium-induced colitic mice, *International Immunopharmacology*, 8 (4), 574-580, 2008.
- 37- Nguyen, T.D.T., Kang, J.H. and Lee, M.S., Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects, *International Journal of Food Microbiology*, 113, 358-361, 2007.
- 38- Jahreis, G. Vogelsang, H., Kiessling, G., Schubert, R., Bunte, C., Hammes, W.P., Influence of probiotic sausage (*Lactobacillus paracasei*) on blood lipids and immunological parameters of healthy volunteers, *Food Research International*, 35 (2), 133-138, 2002.
- 39- Trias, R., Baneras, L., Badosa, E., Montesinos, E., Bioprotection of Golden Delicious apples and Iceberg lettuce against foodborne bacterial pathogens by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 123 (1-2), 50-60, 2008.
- 40- De Muynck, C., Leroy, A.I.J., S.D.M., De Maeseneire, S., Arnaut, F., Soetaert, W., Vandamme, E.J., Potential of selected lactic acid bacteria to produce food compatible antifungal metabolites, *Microbiological Research*, 159, 339-346, 2004.
- 41- Carey, C.M., Kostrzynska, M., Ojha, S., Thompson, S., The effect of probiotics and organic acids on Shiga-toxin 2 gene expression in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7, *Journal of Microbiological Methods*, 73 (2), 125-132, 2008.
- 42- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., Kotzekidou, P., Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Science*, 65, 859-867, 2003.
- 43- Tharmaraj, N. and Shah, N:P., Survival of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium animalis* and *Propionibacterium* in cheese-based dips and the suitability of dips as effective carriers of probiotic bacteria, *International Dairy Journal*, 14 (12), 1055-1066, 2004.

- 44- Aragon-Alegro, L.C., Alegro, J.H.A., Cardarelli, H.R., Chiu, M.C., Saad, S.M.I., Potentially probiotic and symbiotic chocolate mousse, *LWT - Food Science and Technology*, 40 (4), 669-675, 2007.
- 45- Yoon, K.Y., Woodams, E.E., Hang, Y.D., Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. *The Journal of Microbiology*, 42 (4), 315-318, 2004.
- 46- Yoon, K.Y., Woodams, E.E., Hang, Y.D., Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria, *LWT*, 38, 73-75, 2005.
- 47- Yoon, K.Y., Woodams, E.E., Hang, Y.D., Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria, *Bioresource Technology*, 97, 1427-1430, 2006.
- 48- Fazeli M.R. Amirmozafari, N., Golbooi Nejad, R., Jamalifar, H., Antagonistic action of watermelon juice probioticated using different strains of *Lactobacilli* against *Salmonella typhimurium*, *Iranian Journal of Public Health*, 36 (4), 70-73, 2007.
- 49- Arici M. and Coskun F., Hardaliye: fermented grape juice as a traditional Turkish beverage, *Food Microbiology*, 18, 417-421, 2001.
- 50- Coskun F. and Arici M., The effects of using different mustard seeds and starter cultures on some properties of hardaliye, *Annals of Microbiology*, 56 (4), 335-337, 2006.
- 51- Sheehan, V.M., Ross, P. and Fitzgerald, G.F., Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8 (2), 279-284, 2007.
- 52- Anonim, TS 4890, Meyve ve Sebze Mamulleri-Çözünür Katı Madde Miktarı Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 1986.
- 53- Anonim, TS 1728 ISO 1842, Meyve ve Sebze Ürünleri-pH Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 2001.
- 54- Anonim, TS 1125 ISO 750. Meyve ve Sebze Ürünleri-Titrasyon Asitliği Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 2002.

- 55- Anonim, TS 1466, Domates Salçası, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 1992.
- 56- Anonim, TS 4717 ISO 5983, Hayvan Yemleri-Azot Muhtevasının Tayini ve Ham Protein Muhtevasının Hesaplanması-Kjeldahl Metodu, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 1999.
- 57- Anonim, TS 3792, Üzüm Pekmezi, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 1989.
- 58- Anonim, TS 4966, Gıda Mamullerinde Ham Selüloz Miktarının Tayini-Değiştirilmiş Scharrer Metodu, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 1986.
- 59- Anonim, TS 4967, Tahıl ve Tahıl Ürünleri-Toplam Yağ Miktarı Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 1986.
- 60- Anonim, TS 1594 ISO 2448, Meyve ve Sebze Ürünleri-Etanol Muhtevası Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 2001.
- 61- Anonim, TS 6397 Meyve, Sebze ve Mamulleri-Askorbik Asit Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 1989.
- 62- Singleton, V.L. and Rossi, J.A., Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144-158, 1965.
- 63- Anonymus, Aerobic Plate Count, FDA Bacteriological Analytical Manual, Chapter 3, 2001.
- 64- Anonymus, Enumeration of E. coli and the Coliform Bacteria, FDA Bacteriological Analytical Manual, Chapter 4, 2002.
- 65- Anonymus, *Staphylococcus aureus*, FDA Bacteriological Analytical Manual, Chapter 12, 2001.
- 66- Anonymus, *Bacillus cereus*, FDA Bacteriological Analytical Manual, Chapter 14, 2001.
- 67- Anonymus, Yeasts, Molds and Mycotoxins, FDA Bacteriological Analytical Manual, Chapter 18, 2001.

- 68- De Man, J.C., Rogosa, M. and Sharpe, M.E., A medium for the cultivation of lactobacilli, *Journal of Applied Bacteriology*, 23, 130-135, 1960.
- 69- Halkman, A.K., *Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*, Merck, Ankara, 2005.
- 70- Lee, B.H., Simard, R.E., Evaluation methods for detecting the production of H₂S, volatile sulfides, and greening by Lactobacilli, *Journal of Food Science*, 49, 981-983, 1984.
- 71- SAS., *SAS/STAT User's guide* (6, 03); SAS Institute, Inc.: Cary, New York, 1988.

EKLER**EK-1 Fizikokimyasal Çalışmalara Ait Ham Veriler**Briks (Taze Numuneler)

	<u>I. Okuma</u>	<u>II. Okuma</u>	<u>Ortalama</u>
N1	8.30	8.30	8.30
N2	9.25	9.25	9.25
N3	11.00	11.00	11.00
N4	9.10	9.10	9.10
N5	9.00	9.00	9.00
N6	8.50	8.50	8.50
N7	8.10	8.10	8.10
N8	10.50	10.50	10.50
N9	8.70	8.70	8.70

Briks (Geleneksel Fermente Numuneler)

	<u>I. Okuma</u>	<u>II. Okuma</u>	<u>Ortalama</u>
G1	8.00	8.00	8.00
G2	9.00	9.00	9.00
G3	10.70	10.70	10.70
G4	8.80	8.80	8.80
G5	8.70	8.70	8.70
G6	8.20	8.20	8.20
G7	7.90	7.90	7.90
G8	10.20	10.20	10.20
G9	9.50	9.50	9.50

Briks (Laboratuvar Şartlarında Üretilen Numuneler ve Ticari Ürün)

	<u>I. Okuma</u>	<u>II. Okuma</u>	<u>Ortalama</u>
T1	6.40	6.40	6.40
T2	6.40	6.40	6.40
T3	6.40	6.40	6.40
T4	6.40	6.40	6.40
T5	6.40	6.40	6.40
T6	6.40	6.40	6.40
T7	6.40	6.40	6.40
T8	6.40	6.40	6.40

pH (Taze Numuneler)

	<u>I. Okuma</u>	<u>II. Okuma</u>	<u>Ortalama</u>
N1	3.08	3.08	3.08
N2	3.32	3.32	3.32
N3	3.40	3.40	3.40
N4	3.27	3.27	3.27
N5	3.44	3.44	3.44
N6	3.40	3.40	3.40
N7	3.27	3.27	3.27
N8	3.38	3.38	3.38
N9	3.10	3.10	3.10

pH (Geleneksel Fermente Numuneler)

	<u>I. Okuma</u>	<u>II. Okuma</u>	<u>Ortalama</u>
G1	2.43	2.43	2.43
G2	2.46	2.46	2.46
G3	2.69	2.69	2.69
G4	2.40	2.40	2.40
G5	2.49	2.49	2.49
G6	2.57	2.57	2.57
G7	2.58	2.58	2.58
G8	2.66	2.66	2.66
G9	2.60	2.60	2.60

pH (Laboratuvar Şartlarında Üretilen Numuneler ve Ticari Ürün)

	<u>I. Okuma</u>	<u>II. Okuma</u>	<u>Ortalama</u>
T1	2.88	2.88	2.88
T2	2.85	2.85	2.85
T3	2.93	2.93	2.93
T4	2.85	2.85	2.85
T5	2.90	2.90	2.90
T6	2.92	2.92	2.92
T7	2.94	2.94	2.94
T8	3.04	3.04	3.04

Asitlik (Taze Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>		<u>II. Paralel</u>		<u>Ortalama</u>
	<u>S</u>	<u>A</u>	<u>S</u>	<u>A</u>	
N1	4.95	1.89	4.94	1.89	1.89
N2	5.08	1.94	5.08	1.94	1.94
N3	6.01	2.30	6.03	2.30	2.30
N4	6.12	2.34	6.13	2.34	2.34
N5	6.18	2.36	6.22	2.38	2.37
N6	6.11	2.33	6.09	2.33	2.33
N7	6.07	2.32	6.08	2.32	2.32
N8	5.86	2.24	5.85	2.23	2.24
N9	5.51	2.10	5.48	2.09	2.10

F : Titrasyonda harcanan sodyum hidroksit çözeltisinin faktörü (1.061)

Asitlik (Geleneksel Fermente Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>		<u>II. Paralel</u>		<u>Ortalama</u>
	<u>S</u>	<u>A</u>	<u>S</u>	<u>A</u>	
G1	4.66	1.76	4.66	1.76	1.76
G2	4.89	1.84	4.92	1.86	1.85
G3	5.30	2.00	5.30	2.00	2.00
G4	5.63	2.12	5.62	2.12	2.12
G5	4.56	1.72	4.58	1.73	1.72
G6	5.90	2.23	5.92	2.23	2.23
G7	4.22	1.59	4.22	1.59	1.59
G8	5.47	2.06	5.50	2.08	2.07
G9	5.11	1.93	5.12	1.93	1.93

F : Titrasyonda harcanan sodyum hidroksit çözeltisinin faktörü (1.048)

Asitlik (Laboratuvar Şartlarında Üretilen Numuneler ve Ticari Ürün)

	<u>I. Paralel</u>		<u>II. Paralel</u>		<u>Ortalama</u>
	<u>S</u>	<u>A</u>	<u>S</u>	<u>A</u>	
T1	2.52	0.93	2.52	0.93	0.93
T2	2.55	0.94	2.55	0.94	0.94
T3	2.64	0.97	2.64	0.97	0.97
T4	2.65	0.97	2.65	0.97	0.97
T5	2.75	1.01	2.74	1.01	1.01
T6	2.82	1.04	2.79	1.02	1.03
T7	2.76	1.01	2.74	1.01	1.01
T8	3.02	1.11	3.02	1.11	1.11

F : Titrasyonda harcanan sodyum hidroksit çözeltisinin faktörü (1.021)

İndirgen Şeker (Taze Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>		<u>II. Paralel</u>		<u>Ortalama</u>
	<u>V_T</u>	<u>İ.Ş.</u>	<u>V_T</u>	<u>İ.Ş.</u>	
N1	16.80	61.2857	16.90	60.9231	61.10
N2	13.35	77.1236	13.45	76.5502	76.84
N3	13.94	73.8594	13.98	73.6481	73.75
N4	14.52	70.9091	14.60	70.5205	70.71
N5	14.40	71.4999	14.44	71.3019	71.40
N6	17.00	60.5647	17.10	60.2105	60.39
N7	16.66	61.8007	16.68	61.7266	61.76
N8	13.25	77.7057	13.35	77.1236	77.42
N9	14.15	72.7632	14.20	72.5070	72.64

F : Fehling çözeltilerinin faktörü (51.48)

İndirgen Şeker (Geleneksel Fermente Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>		<u>II. Paralel</u>		<u>Ortalama</u>
	<u>V_T</u>	<u>İ.Ş.</u>	<u>V_T</u>	<u>İ.Ş.</u>	
G1	21.65	46.9284	21.60	47.0370	46.98
G2	18.45	55.0678	18.40	55.2174	55.14
G3	75.15	13.5196	75.12	13.5250	13.52
G4	68.70	14.7889	68.66	14.7976	14.79
G5	47.35	21.4572	47.32	21.4708	21.46
G6	39.50	25.7215	39.45	25.7541	25.74
G7	20.30	50.0493	20.25	50.1728	50.11
G8	19.48	52.1560	19.42	52.3172	52.24
G9	25.52	39.8119	25.45	39.9214	39.87

F : Fehling çözeltilerinin faktörü (50.80)

İndirgen Şeker (Laboratuvar Şartlarında Üretilen Numuneler ve Ticari Ürün)

	<u>I. Paralel</u>		<u>II. Paralel</u>		<u>Ortalama</u>
	<u>V_T</u>	<u>İ.Ş.</u>	<u>V_T</u>	<u>İ.Ş.</u>	
T1	26.65	38.2364	26.62	38.2795	38.26
T2	28.75	35.4435	28.70	35.5052	35.47
T3	27.90	36.5233	27.85	36.5889	36.56
T4	27.70	36.7870	27.65	36.8535	36.82
T5	29.58	34.4490	29.52	34.5190	34.48
T6	28.46	35.8046	28.48	35.7795	35.79
T7	28.15	36.1989	28.10	36.2633	36.23
T8	25.72	39.6189	25.70	39.6498	39.63

F : Fehling çözeltilerinin faktörü (50.95)

Protein (Taze Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>			<u>II. Paralel</u>			<u>Ortalama</u>	<u>P (g/kg)</u>
	<u>m</u>	<u>V</u>	<u>Azot</u>	<u>m</u>	<u>V</u>	<u>A</u>		
N1	10.0008	1.38	0.1919	10.0017	1.37	0.1905	0.1912	1.20
N2	10.0012	1.32	0.1835	10.0129	1.32	0.1812	0.1824	1.14
N3	10.0079	1.75	0.2435	10.0738	1.74	0.2405	0.2420	1.51
N4	10.0023	1.57	0.2184	10.0514	1.56	0.2160	0.2172	1.36
N5	10.0065	1.60	0.2226	10.0113	1.58	0.2174	0.2200	1.38
N6	10.0043	1.54	0.2142	10.0056	1.53	0.2128	0.2135	1.33
N7	10.0057	1.64	0.2282	10.1810	1.65	0.2256	0.2269	1.42
N8	10.0004	1.52	0.2115	10.0982	1.52	0.2094	0.2104	1.32
N9	10.0027	1.72	0.2394	10.1753	1.73	0.2368	0.2381	1.49

Protein (Geleneksel Fermente Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>			<u>II. Paralel</u>			<u>Ortalama</u>	<u>P (g/kg)</u>
	<u>m</u>	<u>V</u>	<u>Azot</u>	<u>m</u>	<u>V</u>	<u>Azot</u>		
G1	10.0611	0.48	0.0654	10.2002	0.44	0.0590	0.0622	0.39
G2	10.0832	0.50	0.0681	10.1286	0.47	0.0636	0.0658	0.41
G3	10.1142	0.64	0.0872	10.1590	0.61	0.0827	0.0850	0.53
G4	10.1093	0.70	0.0956	10.2378	0.68	0.0917	0.0936	0.58
G5	10.1012	0.66	0.0901	10.2412	0.70	0.0944	0.0922	0.58
G6	10.1011	0.62	0.0846	10.2234	0.61	0.0822	0.0834	0.52
G7	10.1148	0.56	0.0762	10.1804	0.59	0.0798	0.0780	0.49
G8	10.0967	0.68	0.0929	10.1690	0.66	0.0895	0.0912	0.57
G9	10.0913	0.52	0.0708	10.2580	0.55	0.0737	0.0722	0.45

Protein (Laboratuvar Şartlarında Üretilen Numuneler ve Ticari Ürün)

	<u>I. Paralel</u>			<u>II. Paralel</u>			<u>Ortalama</u>	<u>P (g/kg)</u>
	<u>m</u>	<u>V</u>	<u>Azot</u>	<u>m</u>	<u>V</u>	<u>Azot</u>		
T1	10.2060	1.24	0.1688	10.0031	1.21	0.1694	0.1691	1.06
T2	10.4399	1.26	0.1677	10.0019	1.20	0.1666	0.1672	1.04
T3	10.3567	1.15	0.1542	10.0135	1.09	0.1511	0.1526	0.95
T4	10.2821	1.10	0.1485	10.0092	1.06	0.1469	0.1477	0.92
T5	10.3968	1.15	0.1536	10.2143	1.14	0.1550	0.1543	0.96
T6	10.2881	1.25	0.1688	10.3411	1.23	0.1652	0.1670	1.04
T7	10.6977	1.20	0.1558	10.4673	1.17	0.1552	0.1555	0.97
T8	10.3070	1.32	0.1780	10.0037	1.29	0.1792	0.1786	1.11

Kül (Taze Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>				<u>II. Paralel</u>				<u>Ortalama</u>
	<u>m₀</u>	<u>m₁</u>	<u>m₂</u>	<u>% K</u>	<u>m₀</u>	<u>m₁</u>	<u>m₂</u>	<u>% K</u>	
N1	28.9475	5.1095	28.9685	0.4110	26.9132	5.5443	26.9374	0.4365	0.4238
N2	26.9588	5.1021	26.9869	0.5508	26.6845	5.4852	26.7160	0.5743	0.5626
N3	29.5123	5.1034	29.5473	0.6858	28.7652	5.5480	28.8046	0.7102	0.6980
N4	29.5237	5.1108	29.5472	0.4598	29.7876	5.5012	29.8121	0.4453	0.4526
N5	27.9042	5.1032	27.9285	0.4762	27.8423	5.5117	27.8697	0.4971	0.4866
N6	29.5971	5.1124	29.6297	0.6377	26.4534	5.5069	26.4879	0.6265	0.6321
N7	26.9456	5.1207	26.9718	0.5116	26.9352	5.4133	26.9642	0.5357	0.5236
N8	26.9721	5.0986	27.0002	0.5511	29.5031	5.6555	29.5358	0.5782	0.5646
N9	26.4882	5.0963	26.5146	0.5180	29.4909	5.5366	29.5211	0.5455	0.5318

Kül (Geleneksel Fermente Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>				<u>II. Paralel</u>				<u>Ortalama</u>
	<u>m₀</u>	<u>m₁</u>	<u>m₂</u>	<u>% K</u>	<u>m₀</u>	<u>m₁</u>	<u>m₂</u>	<u>% K</u>	
G1	29.5971	5.1295	29.6174	0.3958	27.8423	5.9485	27.8651	0.3833	0.3896
G2	26.9456	5.1425	26.9717	0.5075	26.4534	5.6840	26.4827	0.5155	0.5115
G3	26.9721	5.0746	27.0031	0.6109	29.5031	5.3487	29.5371	0.6357	0.6233
G4	26.4882	5.1345	26.5100	0.4246	29.4909	5.5674	29.5132	0.4005	0.4126
G5	27.9042	5.1538	27.9265	0.4327	28.7652	5.6547	28.7909	0.4545	0.4436
G6	28.9475	5.1273	28.9768	0.5714	29.7876	5.5239	29.8204	0.5938	0.5826
G7	26.9588	5.2012	26.9835	0.4749	26.9352	5.7133	26.9634	0.4936	0.4842
G8	29.5123	5.3001	29.5386	0.4962	26.9132	5.7555	26.9432	0.5212	0.5087
G9	29.5237	5.1129	29.5485	0.4850	26.6845	5.4296	26.7120	0.5065	0.4958

Kül (Laboratuvar Şartlarında Üretilen Numuneler ve Ticari Ürün)

	<u>I. Paralel</u>				<u>II. Paralel</u>				<u>Ortalama</u>
	<u>m₀</u>	<u>m₁</u>	<u>m₂</u>	<u>% K</u>	<u>m₀</u>	<u>m₁</u>	<u>m₂</u>	<u>% K</u>	
T1	30.5645	5.5412	30.5825	0.3255	28.9487	5.1176	28.9657	0.3322	0.3288
T2	32.4584	5.5622	32.4761	0.3182	29.5134	5.1363	29.5293	0.3096	0.3139
T3	31.6571	5.5874	31.6750	0.3204	29.5240	5.1476	29.5398	0.3069	0.3136
T4	32.2409	5.4870	32.2587	0.3244	29.5983	5.0988	29.6142	0.3118	0.3181
T5	28.9487	5.6018	28.9664	0.3160	30.5645	5.1019	30.5811	0.3254	0.3207
T6	29.5134	5.5707	29.5312	0.3195	32.4584	5.1239	32.4739	0.3025	0.3110
T7	29.5240	5.6119	29.5417	0.3154	31.6571	5.0943	31.6727	0.3062	0.3108
T8	29.5983	5.5943	29.6165	0.3253	32.2409	5.1076	32.2578	0.3309	0.3281

Ham Selüloz (Taze Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>				<u>II. Paralel</u>				<u>Ortalama</u>
	<u>M₀</u>	<u>M₁</u>	<u>M₂</u>	<u>% HS</u>	<u>M₀</u>	<u>M₁</u>	<u>M₂</u>	<u>% HS</u>	
N1	3.0118	82.7528	82.7683	0.5146	3.0118	82.7528	82.7683	0.5146	0.5146
N2	3.0092	76.1165	76.1374	0.6945	3.0092	76.1165	76.1374	0.6945	0.6945
N3	3.0052	86.6981	86.7209	0.7587	3.0052	86.6981	86.7209	0.7587	0.7587
N4	3.0512	86.9836	86.9996	0.5244	3.0512	86.9836	86.9996	0.5244	0.5244
N5	3.0410	87.1327	87.1488	0.5294	3.0410	87.1327	87.1488	0.5294	0.5294
N6	3.0930	75.3283	75.3502	0.7080	3.0930	75.3283	75.3502	0.7080	0.7080
N7	3.0213	77.2362	77.2512	0.4965	3.0213	77.2362	77.2512	0.4965	0.4965
N8	3.0458	75.4369	75.4583	0.7026	3.0458	75.4369	75.4583	0.7026	0.7026
N9	3.0429	77.0395	77.0578	0.6014	3.0429	77.0395	77.0578	0.6014	0.6014

Ham Selüloz (Geleneksel Fermente Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>				<u>II. Paralel</u>				<u>Ortalama</u>
	<u>M₀</u>	<u>M₁</u>	<u>M₂</u>	<u>% HS</u>	<u>M₀</u>	<u>M₁</u>	<u>M₂</u>	<u>% HS</u>	
G1	3.0753	77.0142	77.0288	0.4748	3.0753	77.0142	77.0288	0.4748	0.4748
G2	3.0186	75.0148	75.0339	0.6327	3.0186	75.0148	75.0339	0.6327	0.6327
G3	3.0281	77.0129	77.0334	0.6770	3.0281	77.0129	77.0334	0.6770	0.6770
G4	3.0334	88.7998	88.8144	0.4813	3.0334	88.7998	88.8144	0.4813	0.4813
G5	3.0619	87.3063	87.3209	0.4768	3.0619	87.3063	87.3209	0.4768	0.4768
G6	3.0609	87.1817	87.2015	0.6469	3.0609	87.1817	87.2015	0.6469	0.6469
G7	3.0208	83.9518	83.9656	0.4568	3.0208	83.9518	83.9656	0.4568	0.4568
G8	3.1007	74.2884	74.3079	0.6289	3.1007	74.2884	74.3079	0.6289	0.6289
G9	3.0029	76.2236	76.2408	0.5728	3.0029	76.2236	76.2408	0.5728	0.5728

Ham Selüloz (Laboratuvar Şartlarında Üretilen Numuneler ve Ticari Ürün)

	<u>I. Paralel</u>				<u>II. Paralel</u>				<u>Ortalama</u>
	<u>M₀</u>	<u>M₁</u>	<u>M₂</u>	<u>% HS</u>	<u>M₀</u>	<u>M₁</u>	<u>M₂</u>	<u>% HS</u>	
T1	3.0618	87.2154	87.2271	0.3821	3.0618	87.2154	87.2271	0.3821	0.3821
T2	3.0095	86.2347	86.2461	0.3788	3.0095	86.2347	86.2461	0.3788	0.3788
T3	3.0126	85.3212	85.3331	0.3950	3.0126	85.3212	85.3331	0.3950	0.3950
T4	3.0117	83.2465	83.2578	0.3752	3.0117	83.2465	83.2578	0.3752	0.3752
T5	3.0205	78.6521	78.6629	0.3575	3.0205	78.6521	78.6629	0.3575	0.3575
T6	3.0072	77.5416	77.5534	0.3924	3.0072	77.5416	77.5534	0.3924	0.3924
T7	3.0246	76.1145	76.1254	0.3604	3.0246	76.1145	76.1254	0.3604	0.3604
T8	3.0684	75.0167	75.0289	0.3976	3.0684	75.0167	75.0289	0.3976	0.3976

% Yağ, KM (Taze Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>				<u>II. Paralel</u>				KM'de % Ortalama
	<u>m₀</u>	<u>m₁</u>	<u>m₂</u>	<u>% Y</u>	<u>m₀</u>	<u>m₁</u>	<u>m₂</u>	<u>% Y</u>	
N1	5.3450	73.5016	73.5207	0.3573	5.0893	74.0790	74.0972	0.3576	0.3898
N2	5.1260	74.2273	74.2429	0.3043	5.1641	73.7854	73.8012	0.3060	0.3362
N3	5.2241	78.6096	78.6248	0.2910	5.2354	74.2224	74.2370	0.2789	0.3202
N4	5.6613	73.7876	73.8058	0.3215	5.3185	73.2800	73.2969	0.3178	0.3516
N5	5.0532	76.2499	76.2668	0.3344	5.1951	75.4025	75.4201	0.3388	0.3699
N6	5.6025	75.8448	75.8644	0.3498	5.1773	78.6097	78.6277	0.3477	0.3811
N7	5.2014	76.1238	76.1393	0.2980	5.1865	75.2721	75.2874	0.2950	0.3226
N8	5.3267	77.2445	77.2603	0.2966	5.1365	76.6656	76.6806	0.2920	0.3288
N9	5.1469	78.2365	78.2533	0.3264	5.2457	75.7362	75.7531	0.3222	0.3552

% Yağ, KM (Geleneksel Fermente Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>				<u>II. Paralel</u>				KM'de % Ortalama
	<u>m₀</u>	<u>m₁</u>	<u>m₂</u>	<u>% Y</u>	<u>m₀</u>	<u>m₁</u>	<u>m₂</u>	<u>% Y</u>	
G1	5.3612	74.2278	74.2465	0.3488	5.3185	77.1196	77.1384	0.3535	0.3817
G2	5.6012	73.7885	73.8052	0.2982	5.2130	73.5012	73.5166	0.2954	0.3262
G3	5.8510	75.8452	75.8612	0.2734	5.1650	73.2890	73.3029	0.2691	0.3038
G4	5.5471	78.2369	78.2544	0.3155	5.1863	79.6168	79.6333	0.3181	0.3474
G5	5.4894	73.5022	73.5204	0.3315	5.0987	74.0790	74.0957	0.3275	0.3609
G6	5.1375	78.6103	78.6276	0.3367	5.5114	73.7852	73.8042	0.3447	0.3711
G7	5.7151	77.2454	77.2664	0.3674	5.4339	74.2228	74.2424	0.3607	0.3953
G8	5.1633	73.5061	73.5210	0.2886	5.2337	73.2875	73.3022	0.2809	0.3171
G9	5.1965	76.1246	76.1406	0.3079	5.1690	75.4031	75.4192	0.3115	0.3422

% Yağ, KM (Laboratuvar Şartlarında Üretilen Numuneler ve Ticari Ürün)

	<u>I. Paralel</u>				<u>II. Paralel</u>				KM'de % Ortalama
	<u>m₀</u>	<u>m₁</u>	<u>m₂</u>	<u>% Y</u>	<u>m₀</u>	<u>m₁</u>	<u>m₂</u>	<u>% Y</u>	
T1	5.2254	73.5025	73.5220	0.3732	5.1237	74.0793	74.0988	0.3806	0.4027
T2	5.0365	78.6114	78.6300	0.3693	5.3185	73.5020	73.5222	0.3798	0.4002
T3	5.0652	77.2466	77.2658	0.3790	5.0886	75.4035	75.4244	0.3694	0.3998
T4	5.0918	73.5069	73.5256	0.3672	5.0698	75.2730	75.2922	0.3787	0.3984
T5	5.1125	74.2285	74.2477	0.3756	5.6412	79.6173	79.6393	0.3900	0.4090
T6	5.1038	73.7892	73.8090	0.3879	5.1950	73.2893	73.3086	0.3715	0.4057
T7	5.0776	76.1254	76.1448	0.3821	5.2462	77.1200	77.1405	0.3908	0.4129
T8	5.0922	73.5027	73.5224	0.3869	5.1481	78.6109	78.6311	0.3924	0.3979

Etil Alkol (Taze Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>		<u>II. Paralel</u>		<u>Ortalama</u>
	<u>V₂</u>	<u>E:A:</u>	<u>V₂</u>	<u>E:A:</u>	
N1	42.3				TE
N2	42.3				TE
N3	42.3				TE
N4	42.3				TE
N5	42.3				TE
N6	42.3				TE
N7	42.3				TE
N8	42.3				TE
N9	42.3				TE

V₃: 42.3 ml (Numunelerin damıtma ürününden elde edilen analiz çözeltileri için titrasyonda kullanılan hacimler (V₂), tanık deney için titrasyonda kullanılan hacme eşit olduğundan numunelerde “etil alkol tespit edilemedi” şeklinde sonuç verilmiştir.

Etil Alkol (Geleneksel Fermente Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>		<u>II. Paralel</u>		<u>Ortalama</u>
	<u>V₂</u>	<u>E:A:</u>	<u>V₂</u>	<u>E:A:</u>	
G1	41.8	0.6588	41.8	0.6588	0.6588
G2	39.8	2.5412	39.9	2.4470	2.4941
G3	36.2	5.9294	36.3	5.8353	5.8824
G4	36.0	6.1176	36.0	6.1176	6.1176
G5	37.5	4.7059	37.6	4.6118	4.6588
G6	37.8	4.4235	37.9	4.3294	4.3764
G7	38.2	4.0471	38.1	4.1412	4.0942
G8	39.2	3.1059	39.2	3.1059	3.1059
G9	41.6	0.8470	41.6	0.8470	0.8470

V₃: 42.5 ml

Etil Alkol (Laboratuvar Şartlarında Üretilen Numuneler ve Ticari Ürün)

	<u>I. Paralel</u>		<u>II. Paralel</u>		<u>Ortalama</u>
	<u>V₂</u>	<u>E:A:</u>	<u>V₂</u>	<u>E:A:</u>	
T1	43.8	0.6292	43.7	0.7191	0.6742
T2	43.4	0.9888	43.4	0.9888	0.9888
T3	43.5	0.8989	43.4	0.9888	0.9438
T4	42.8	1.5281	42.9	1.4382	1.4832
T5	42.5	1.7978	42.5	1.7978	1.7978
T6	42.8	1.5281	42.7	1.6180	1.5730
T7	43.2	1.1685	43.2	1.1685	1.1685
T8	44.5	0	44.5	0	TE

V₃: 44.5 ml

Askorbik Asit (Taze Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>	<u>II. Paralel</u>	<u>Ortalama</u>	<u>A.A</u>
	$\frac{V_N}{V_N}$	$\frac{V_N}{V_N}$	$\frac{V_N}{V_N}$	$\frac{A.A}{A.A}$
N1	29.40	29.50	29.45	58.84
N2	27.45	27.55	27.50	54.94
N3	26.10	26.15	26.125	52.19
N4	25.70	25.80	25.75	51.44
N5	26.85	26.80	26.825	53.59
N6	27.10	27.20	27.15	54.24
N7	26.30	26.35	26.325	52.59
N8	28.95	29.00	28.975	57.89
N9	26.60	26.65	26.625	53.19

Askorbik Asit (Geleneksel Fermente Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>	<u>II. Paralel</u>	<u>Ortalama</u>	<u>A.A</u>
	$\frac{V_N}{V_N}$	$\frac{V_N}{V_N}$	$\frac{V_N}{V_N}$	$\frac{A.A}{A.A}$
G1	18.20	18.25	18.225	36.39
G2	16.65	16.75	16.70	33.34
G3	14.50	14.50	14.50	28.94
G4	14.60	14.70	14.65	29.24
G5	15.60	15.60	15.60	31.14
G6	15.70	15.80	15.75	31.44
G7	15.50	15.60	15.55	31.04
G8	17.90	18.00	17.95	35.84
G9	16.50	16.60	16.55	33.04

Askorbik Asit (Laboratuvar Şartlarında Üretilen Numuneler ve Ticari Ürün)

	<u>I. Paralel</u>	<u>II. Paralel</u>	<u>Ortalama</u>	<u>A.A</u>
	$\frac{V_N}{V_N}$	$\frac{V_N}{V_N}$	$\frac{V_N}{V_N}$	$\frac{A.A}{A.A}$
T1	19.30	19.40	19.35	38.64
T2	18.90	19.00	18.95	37.84
T3	18.80	18.90	18.85	37.64
T4	18.90	19.00	18.95	37.84
T5	18.60	18.60	18.60	37.14
T6	18.60	18.50	18.55	37.04
T7	18.90	19.00	18.95	37.84
T8	19.40	19.45	19.425	38.79

Toplam Fenolik Madde (Taze Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>			<u>II. Paralel</u>			<u>Ortalama</u>	
	<u>ABS₁</u>	<u>ABS₂</u>	<u>ABS₃</u>	<u>ABS₁</u>	<u>ABS₂</u>	<u>ABS₃</u>	<u>ABS</u>	<u>TFM</u>
N1	0.564	0.573	0.553	0.560	0.571	0.562	0.5638	540.22
N2	0.540	0.543	0.535	0.531	0.546	0.540	0.5392	515.25
N3	0.577	0.567	0.559	0.551	0.566	0.588	0.5680	544.47
N4	0.527	0.538	0.524	0.516	0.507	0.518	0.5217	497.50
N5	0.573	0.577	0.582	0.576	0.594	0.579	0.5802	556.81
N6	0.569	0.578	0.584	0.585	0.590	0.584	0.5817	558.36
N7	0.496	0.511	0.524	0.526	0.512	0.507	0.5127	488.34
N8	0.621	0.608	0.597	0.613	0.604	0.595	0.6063	583.35
N9	0.533	0.542	0.549	0.567	0.558	0.549	0.5497	525.90

Toplam Fenolik Madde (Geleneksel Fermente Numuneler)

	<u>I. Paralel</u>			<u>II. Paralel</u>			<u>Ortalama</u>	
	<u>ABS₁</u>	<u>ABS₂</u>	<u>ABS₃</u>	<u>ABS₁</u>	<u>ABS₂</u>	<u>ABS₃</u>	<u>ABS</u>	<u>TFM</u>
G1	0.723	0.715	0.707	0.701	0.710	0.722	0.7130	691.54
G2	0.647	0.653	0.664	0.656	0.660	0.654	0.6557	633.42
G3	0.714	0.679	0.710	0.683	0.704	0.695	0.6975	675.82
G4	0.626	0.635	0.643	0.640	0.631	0.628	0.6338	611.20
G5	0.718	0.722	0.730	0.717	0.726	0.738	0.7252	703.91
G6	0.717	0.720	0.727	0.730	0.721	0.709	0.7207	699.35
G7	0.610	0.622	0.629	0.624	0.626	0.633	0.6240	601.26
G8	0.747	0.758	0.753	0.746	0.759	0.751	0.7523	731.40
G9	0.684	0.689	0.696	0.693	0.686	0.674	0.6870	665.16

Toplam Fenolik Madde (Laboratuvar Şartlarında Üretilen Numuneler ve Ticari Ürün)

	<u>I. Paralel</u>			<u>II. Paralel</u>			<u>Ortalama</u>	
	<u>ABS₁</u>	<u>ABS₂</u>	<u>ABS₃</u>	<u>ABS₁</u>	<u>ABS₂</u>	<u>ABS₃</u>	<u>ABS</u>	<u>TFM</u>
T1	0.663	0.640	0.657	0.668	0.656	0.648	0.6553	633.01
T2	0.652	0.661	0.656	0.653	0.638	0.661	0.6535	631.19
T3	0.648	0.654	0.660	0.638	0.650	0.663	0.6522	629.87
T4	0.665	0.659	0.674	0.638	0.640	0.649	0.6582	635.95
T5	0.652	0.668	0.677	0.651	0.678	0.663	0.6648	642.65
T6	0.646	0.639	0.659	0.650	0.645	0.656	0.6492	626.82
T7	0.642	0.654	0.667	0.645	0.657	0.664	0.6548	632.50
T8	0.648	0.645	0.624	0.640	0.637	0.651	0.6408	628.85

EK-2 Mikrobiyolojik Çalışmalara Ait Ham Veriler

Geleneksel Yöntemle Fermente Edilen Gilaburu Suyu Numuneleri
PCA Besiyerine Yapılan Ekimlerde İnkübasyon Sonrası Mezofilik Aerobik Bakteri
Kolonileri Sayım Sonuçları

	Dilüsyon	I. Petri (kob)	II. Petri (kob)	Ortalama (kob)	Mezofilik Aerobik Bakteri (kob/g)
G1	10^{-3}	54	60	57	6.1×10^4
	10^{-4}	8	5	6.5	
G2	10^{-2}	332	310	321	3.3×10^4
	10^{-3}	43	25	34	
G3	10^{-4}	78	96	87	9.1×10^5
	10^{-5}	9	10	9.5	
G4	10^{-4}	37	45	41	4.8×10^5
	10^{-5}	6	5	5.5	
G5	10^{-4}	32	43	37.5	4.1×10^5
	10^{-5}	4	5	4.5	
G6	10^{-3}	51	68	59.5	6.0×10^4
	10^{-4}	5	7	6	
G7	10^{-3}	63	87	75	7.8×10^4
	10^{-4}	6	10	8	
G8	10^{-4}	46	62	54	5.7×10^5
	10^{-5}	5	7	6	
G9	10^{-2}	226	244	235	2.4×10^4
	10^{-3}	30	19	24.5	

DRBC Besiyerine Yapılan Ekimlerde İnkübasyon Sonrası Küf-Maya Kolonileri Sayım Sonuçları

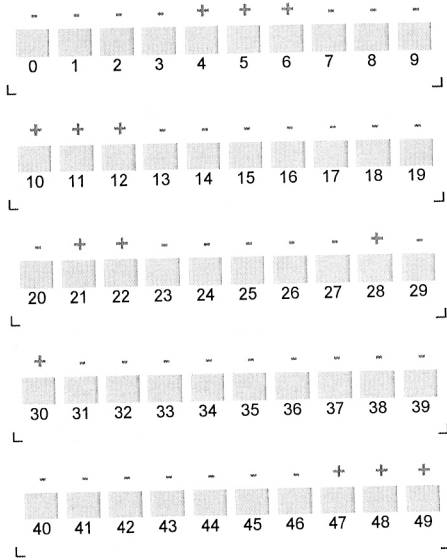
	Dilüsyon	I. Petri (kob)	II. Petri (kob)	Ortalama (kob)	Küf (kob/g)	Maya (kob/g)
G1	10 ⁻³	58 maya	72 maya	65 maya	Üreme olmadı	1.5x10 ⁵
	10 ⁻⁴	10 maya	7 maya	8.5 maya		
G2	10 ⁻²	117 maya	82 maya	99.5 maya	Üreme olmadı	2.0x10 ⁴
	10 ⁻³	12 maya	9 maya	10.5 maya		
G3	10 ⁻³	49 maya, 36 küf	77 maya, 44 küf	63 maya, 40 küf	9.0x10 ⁴	1.6x10 ⁵
	10 ⁻⁴	10 maya, 5 küf	9 maya, 5 küf	9.5 maya, 5 küf		
G4	10 ⁻³	42 maya, 8 küf	53 maya, 5 küf	47.5 maya, 6.5 küf	1.3x10 ⁴	1.1x10 ⁵
	10 ⁻⁴	7 maya, 0 küf	5 maya, 0 küf	6 maya, 0 küf		
G5	10 ⁻³	18 maya	24 maya	21 maya	Üreme olmadı	4.6x10 ⁴
	10 ⁻⁴	3 maya	2 maya	2.5 maya		
G6	10 ⁻²	160 maya	142 maya	99.5 maya	Üreme olmadı	3.1x10 ⁴
	10 ⁻³	17 maya	14 maya	15.5 maya		
G7	10 ⁻²	92 maya	84 maya	88 maya	Üreme olmadı	1.8x10 ⁴
	10 ⁻³	11 maya	7 maya	9 maya		
G8	10 ⁻²	46 maya	32 maya	39 maya	Üreme olmadı	8.4x10 ³
	10 ⁻³	6 maya	3 maya	4.5 maya		
G9	10 ⁻³	43 maya	35 maya	39 maya	Üreme olmadı	7.9x10 ⁴
	10 ⁻⁴	4 maya	4 maya	4 maya		

MRS ve M17 Besiyerlerine Yapılan Ekimlerde İnkübasyon Sonrası Laktik Asit Bakterileri Sayım Sonuçları

	Dilüsyon	MRS			M17		
		I. Petri (kob)	II. Petri (kob)	Ortalama (kob/g)	I. Petri (kob)	II. Petri (kob)	Ortalama (kob/g)
G1	10 ⁻³	160	140	2.9x10 ⁵	156	134	3.0x10 ⁵
	10 ⁻⁴	17	11		16	12	
G2	10 ⁻²	118	154	3.3x10 ⁴	126	160	3.4x10 ⁴
	10 ⁻³	20	18		22	17	
G3	10 ⁻³	çok yoğun	çok yoğun	3.0x10 ⁶	çok yoğun	çok yoğun	2.1x10 ⁶
	10 ⁻⁴	160	142		114	94	
G4	10 ⁻²	156	96	2.7x10 ⁴	112	90	2.1x10 ⁴
	10 ⁻³	16	12		13	9	
G5	10 ⁻³	198	182	3.8x10 ⁵	78	65	1.8x10 ⁵
	10 ⁻⁴	25	20		12	10	
G6	10 ⁻³	260	255	6.1x10 ⁵	206	200	5.3x10 ⁵
	10 ⁻⁴	38	32		38	28	
G7	10 ⁻²	38	27	6.8x10 ³	42	39	8.6x10 ³
	10 ⁻³	4	3		5	4	
G8	10 ⁻³	210	200	4.2x10 ⁵	195	180	4.8 x10 ⁵
	10 ⁻⁴	22	20		30	29	
G9	10 ⁻³	240	220	4.7x10 ⁵	260	256	5.3 x10 ⁵
	10 ⁻⁴	25	23		30	24	



API 50 CHL V5.0



REFERENCE DATE
03/05/08
COMMENT

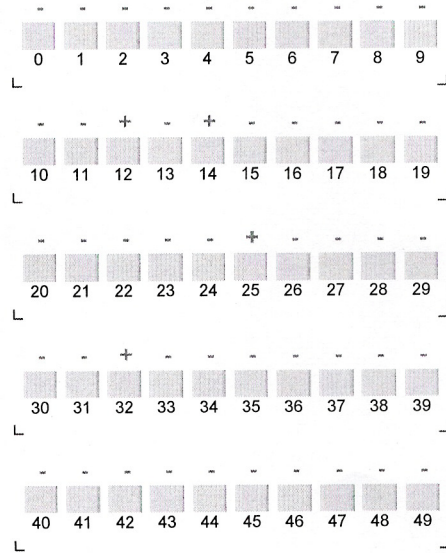
EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip API 50 CHL V5.0
Profile -----++++-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
Note

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Lactobacillus brevis 3	99.9	0.8	2KG	1%		
Next taxon	% ID	T	Tests against			
Lactobacillus collinoides	0.1	0.46	MDG	1%	MEL 25%	2KG 0%



API 50 CHL V5.0



REFERENCE DATE
2104/08
COMMENT

DOUBTFUL PROFILE

Strip API 50 CHL V5.0
Profile -----+ +-----+-----+-----
Note

Significant taxa	% ID	T	Tests against
Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii	79.4	0.25	GLU 98% MNE 81% SBE 0% ESC 24% MAL 75% SAC 87% TRE 20%
Pediococcus damnosus 1	19.2	0.08	GAL 75% GLU 100% MNE 100% SBE 0% NAG 99%
Next taxon	% ID	T	Tests against
Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus	0.7	0.0	GLU 98% SBE 0% ESC 0% LAC 98% TRE 2%
Complementary test(s)	45°C		COCCI
Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii	+		-
Pediococcus damnosus	-		+

ÖZGEÇMİŞ

Adı : Nurdan
Soyadı : Yapar
Doğum Yeri, Yılı : Kırıkkale, 1968
Baba Adı : Mustafa
Ana Adı : Semiha

İlk, orta ve lise öğrenimini Kayseri’de tamamladı. 1991 yılında Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nden mezun oldu. Halen Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Kayseri İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü’nde çalışmaktadır.

İletişim Bilgileri:

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı
Kayseri İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü
Melikgazi/KAYSERİ
İş Tel: 0352 336 24 86
Ev Tel: 0352 232 37 22
E-posta Adresi: nurdanyapar@yahoo.com