

**FONKSİYONEL KEÇİ YOĞURDU ÜRETİMİNDE  
FARKLI BAŞLATICI KÜLTÜRLERİN KULLANIM  
İMKÂNLARININ ARAŞTIRILMASI**

**Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Yüksek Lisans Tezi  
Biyoloji Anabilim Dalı**

**Didem AKPINAR**

**Danışman:  
Yrd. Doç. Dr. Gül den BAŞYİĞİT KILIÇ**

**Ocak, 2013  
BURDUR**



## YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

**DİDEM AKPINAR** tarafından **YRD. DOÇ. DR. GÜLDEN BAŞYİĞİT KILIÇ** yönetiminde hazırlanan “**FONKSİYONEL KEÇİ YOĞURDU ÜRETİMİNDE FARKLI BAŞLATICI KÜLTÜRLERİN KULLANIM İMKÂNLARININ ARAŞTIRILMASI**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 10/01/2013

  
.....  
Prof. Dr. M. Lütfü ÇAKMAKÇI  
Ankara Üniversitesi  
Başkan

  
.....  
Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
Jüri Üyesi

  
.....  
Yrd. Doç. Dr. Gülden BAŞYİĞİT KILIÇ  
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi  
Jüri Üyesi

### ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... tarih ve ..... Sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

.....  
Doç. Dr. Songül ŞEN GÜRSOY  
Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER .....	i
ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	viii
TEŞEKKÜR .....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xiii
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Yoğurt Üretiminde Kullanılan Başlatıcı Kültürler .....	4
1.1.1. Başlatıcı Kültürlerde Aranılan Özellikler .....	6
1.1.1.1. Laktik Asit Oluşturma .....	6
1.1.1.2. Tat ve Aroma Maddeleri Üretimi .....	7
1.1.1.3. Proteolitik Aktivite .....	9
1.1.1.4. Ekzopolisakkarit Üretimi .....	10
1.1.1.5. Faj Dirençliliği .....	12
1.1.1.6. Diğer Özellikler .....	14
1.2. Probiyotikler .....	16
1.2.1. Probiyotiklerin Tanımı .....	16
1.2.2. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar .....	18
1.2.3. Probiyotik Mikroorganizmalarda Aranılan Özellikler .....	20
1.2.3.1. Suşun Kökeni .....	21
1.2.3.2. Suşun Güvenilir Olması .....	21
1.2.3.3. Düşük pH Toleransı .....	22
1.2.3.4. Safra Tuzu Toleransı .....	23
1.2.3.5. Bağırsak Epitel Yüzeyine Tutunma .....	24
1.2.3.6. Antimikrobiyel Etki .....	27
1.2.4. Probiyotik Mikroorganizmaların Sağlık Üzerine Etkileri .....	29
1.2.4.1. Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi .....	30

1.2.4.2. Antikarsinojen Etkisi .....	31
1.2.4.3. Diyare.....	33
1.2.4.4. Antikolesterol Etkisi .....	34
1.2.4.5. Laktoz Hidrolizi .....	36
1.2.4.6. Vitamin Üretimi.....	37
1.3. Fonksiyonel Gıdalar .....	37
1.4. Keçi Sütü ve Besinsel İçeriği .....	40
1.4.1. Türkiye ve Dünyada Keçi Sütü ve Ürünleri.....	43
1.5. Yoğurt.....	44
1.5.1. Süt ve Süt Ürünleri Tüketiminin Sağlık Üzerine Etkileri .....	46
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	48
2.1. Materyal.....	48
2.2. Yöntem .....	48
2.2.1. Yoğurt Örneklerinin İzolasyon için Hazırlanması .....	48
2.2.2. İzolasyonda Kullanılan Besiyerleri .....	49
2.2.3. İzolasyon .....	50
2.2.3.1. Preparatların Fotoğraflarının Çekilmesi .....	50
2.2.3.2. Saf Kültürlerin Muhafaza Edilmesi .....	50
2.2.4. Yoğurt İzolatlarının Başlatıcı Kültür Olma Özelliklerinin Belirlenmesi .....	51
2.2.4.1. İzolatların Sütü Koagüle Etmesi .....	51
2.2.4.2. İzolatların Laktik Asit Üretimi .....	51
2.2.4.3. İzolatların Asetaldehit Üretimi .....	51
2.2.4.4. İzolatların Proteolitik Aktivite Tayini.....	52
2.2.4.5. İzolatların EPS Üretimi.....	53
2.2.5. Yoğurt İzolatlarının Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi ...	54
2.2.5.1. Yapay Mide Suyunda Canlılığın Belirlenmesi .....	54
2.2.5.2. % 0,4 Fenol Toleransının Belirlenmesi .....	55
2.2.5.3. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Üretimi.....	55
2.2.5.4. β-Galaktozidaz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	56
2.2.6. Yoğurt Üretimi .....	57

2.2.6.1. Yoğurt Üretiminde Kullanılan Kültürler ve Üretim Grupları .....	57
2.2.6.2. Kültürlerin Hazırlanması .....	58
2.2.6.3. Yoğurt Üretimi.....	58
2.2.7. Yoğurtların Mikrobiyolojik Analizleri.....	59
2.2.8. Yoğurtların Fizikokimyasal Analizleri.....	59
2.2.8.1. Kuru Madde Tayini.....	59
2.2.8.2. Yağ Tayini .....	60
2.2.8.3. Titre Edilebilir Asitlik Tayini .....	60
2.2.8.4. pH.....	61
2.2.8.5. Proteoliz .....	61
2.2.8.6. Su Salma .....	61
2.2.9. Duyusal Değerlendirme.....	61
2.2.10. İstatistiksel Değerlendirme.....	62
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	63
3.1. İzolasyon Sonuçları .....	63
3.2. Yoğurt İzolatlarının Başlatıcı Kültür Olma Özelliklerinin Belirlenmesi ...	66
3.2.1. İzolatların Sütü Koagüle Etmesi .....	66
3.2.2. İzolatların Laktik Asit Üretimi.....	66
3.2.3. İzolatların Asetaldehit Üretimi.....	67
3.2.4. İzolatların Proteolitik Aktivite Tayini .....	69
3.2.5. İzolatların EPS Üretimi .....	70
3.3. Yoğurt İzolatlarının Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	72
3.3.1. Yapay Mide Suyunda Canlılığın Belirlenmesi.....	72
3.3.2. % 0,4 Fenol Toleransının Belirlenmesi.....	72
3.3.3. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Üretimi .....	73
3.3.4. β-Galaktozidaz Aktivitesinin Belirlenmesi .....	75
3.4. Yoğurt Analizleri .....	76
3.4.1. Yoğurtların Mikrobiyolojik Analizleri.....	76
3.4.2. Yoğurtların Fizikokimyasal Analizleri.....	78
3.4.2.1. Kuru Madde Miktarı .....	78
3.4.2.2. Yağ Miktarı.....	79

3.4.2.3. Titre Edilebilir Asitlik.....	80
3.4.2.4. pH.....	80
3.4.2.5. Proteoliz .....	81
3.4.2.6. Su Salma .....	83
3.4.3. Duyusal Değerlendirme.....	84
4. TARTIşMA VE SONUÇ .....	86
4.1. İzolasyon Sonuçları.....	86
4.2. Yoğurt İzolatlarının Başlatıcı Kùltür Olma Özelliklerinin Belirlenmesi .....	88
4.2.1. İzolatların Sütü Koagüle Etmesi .....	88
4.2.2. İzolatların Laktik Asit Üretimi .....	89
4.2.3. İzolatların Asetaldehit Üretimi.....	91
4.2.4. İzolatların Proteolitik Aktivite Tayini .....	92
4.2.5. İzolatların EPS Üretimi .....	93
4.3. Yoğurt İzolatlarının Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi .....	95
4.3.1. Yapay Mide Suyunda Canlılığın Belirlenmesi.....	95
4.3.2. % 0,4 Fenol Toleransının Belirlenmesi.....	98
4.3.3. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Üretimi .....	100
4.3.4. β- Galaktozidaz Aktivitesinin Belirlenmesi .....	101
4.4. Yoğurt Analizleri .....	103
4.4.1. Yoğurtların Mikrobiyolojik Analizleri.....	103
4.4.2. Yoğurtların Fizikokimyasal Analizleri.....	108
4.4.2.1. Kuru Madde Miktarı .....	108
4.4.2.2. Yağ Miktarı.....	109
4.4.2.3. Titre Edilebilir Asitlik.....	110
4.4.2.4. pH.....	112
4.4.2.5. Proteoliz .....	114
4.4.2.6. Su Salma .....	115
4.4.3. Duyusal Değerlendirme.....	117
4.5. Sonuç.....	118
5. KAYNAKLAR .....	121
EKLER.....	149

EK-1 <i>L. johnsonii</i> grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH).....	150
EK-2 <i>L. rhamnosus</i> GG grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH).....	152
EK-3 <i>L. casei</i> grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH) .....	154
EK-4 <i>L. acidophilus</i> grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH).....	156
EK-5 <i>Str. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH) .....	158
EK-6 <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH) .....	159
EK-7 Laktik asit üretiminin belirlenmesi için seçilen izolatların 16 saate kadar sütü koagüle etme özellikleri (pH) .....	160
EK-8 İzolatların % laktik asit üretimi .....	161
EK-9 İzolatların 120 dakika süresince yapay mide suyu ortamındaki canlılığı.....	162
EK-10 İzolatların % 0,4 fenol toleransı .....	164
EK-11 Depolama süresince yoğurtların duyu özelliklerinde meydana gelen değişim .....	166
EK-12 Duyusal değerlendirme formu.....	167
ÖZGEÇMİŞ .....	168

# ÖZET

## Yüksek Lisans Tezi

### FONKSİYONEL KEÇİ YOĞURDU ÜRETİMİNDE FARKLI BAŞLATICI KÜLTÜRLERİN KULLANIM İMKÂNLARININ ARAŞTIRILMASI

**Didem AKPINAR**  
**Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi**  
**Fen Bilimleri Enstitüsü**  
**Biyoloji Anabilim Dalı**

Bu çalışmada Isparta, Burdur, Afyon, Hatay, Bodrum, Aydın, Denizli, Sivas, Zonguldak illeri halk pazarlarında satılan ve özellikle evlerde ve mandıralarda küçük ölçekli olarak üretilen 40 adet yoğurt izolasyon materyali olarak kullanılmış, örneklerden izole edilen laktik asit bakterilerinin teknolojik ve probiyotik özellikleri belirlenerek en iyi özelliğe sahip izolatlarla yoğurt üretimi gerçekleştirilmiştir.

*Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. johnsonii*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* gruplarına özgü besiyerleri kullanılarak izole edilen toplam 382 adet izolatın teknolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla ilk olarak sütü koagüle etme yetenekleri incelenmiş, pH'yı 3,20-3,95 arasında düşürme yeteneğine sahip izolatların laktik asit üretimlerinin % 0,14-0,32 arasında olduğu tespit edilmiştir. Süt koagülsayon yeteneği yüksek olan 49 adet izolatın asetaldehit üretimi 0,002-0,023 mg/ml aralığında değişim gösterirken, proteolitik aktivitelerinin 0,10-0,27 mg/ml, ekzopolisakkarit üretimlerinin ise 0,08-0,54 mg/ml arasında olduğu tespit edilmiştir.

İzolatların bazı probiyotik özelliklerini belirlemek amacıyla pH'sı 3,5 olan yapay mide suyu ve % 0,4 fenol içeren ortamlarda canlılıkları incelendiğinde; 49 izolattan 46 adedinin 120 dakika boyunca yapay mide suyu ortamında canlılığını koruyabildiği, % 0,4 fenol ortamında ise 49 izolattan 25 tanesinin canlılığını sürdürebildiği belirlenmiştir. İzolatların  $\beta$ -galaktosidaz aktivitesinin 2,40 ile 517,32 nmol/dakika/OD650/ml aralığında değiştiği, 49 izolatın tümünün hidrojen peroksit üretme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Araştırmadan elde edilen sonuçlar neticesinde en iyi teknolojik ve probiyotik özelliklere sahip Lc14C, Lc37C, Lr12A ve Lr26A kodlu dört adet bakteri kullanılarak keçi yoğurdu üretilmiş, üretilen yoğurtların 21 günlük depolama süresince kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Üretilen deneme grubu yoğurtlarının teknolojik özelliklerinin kontrol grubuyla benzerlik gösterdiği, 21 günlük depolama süresi boyunca yoğurtlara ilave edilen probiyotik kültürlerin depolama süresince canlılıklarını korudukları tespit edilmiştir.



**Anahtar Kelimeler:** Laktik asit bakterileri, probiyotik, starter (başlatıcı) kültür, yoğurt, keçi sütü

**Danışman:** Yrd. Doç. Dr. Gülden BAŐYIęİT KILIÇ, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Bilimleri Anabilim Dalı.

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatrlğ tarafından 0149-YL-12 no'lu projeden desteklenmiştir.

## ABSTRACT

M. Sc. Thesis

### RESEARCHING OF USING POSSIBILITY OF DIFFERENT STARTER CULTURES FOR THE PRODUCTION OF FUNCTIONAL GOAT YOGHURT

Didem AKPINAR  
Mehmet Akif Ersoy University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

In this study, yoghurts produced at homes and small scale dairies with traditional methods were collected from Isparta, Burdur, Afyon, Hatay, Bodrum, Aydın, Denizli, Sivas and Zonguldak provinces' local markets and used as isolation materials. Technological and probiotic properties of lactic acid bacteria which were isolated from yoghurts were determined and yoghurts were produced with the isolates having the best features.

382 isolates which were isolated from specific medium for *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *L. johnsonii*, *L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus* and *L. casei* were investigated for the various technological properties such as milk coagulation. Lactic acid production of isolates which were reduced pH to 3,20-3,95 was found between 0,14-0,32 %. Acetaldehyde production of the 49 strains with high milk coagulation was determined between 0,002 and 0,023 mg/ml, while their proteolytic activity and exopolysaccharide production were 0,10-0,27 mg/ml and 0,08-0,54mg/ml, respectively.

Viability of isolates were investigated in artificial gastric juice at pH 3,5 and media containing 0,4 % phenol in order to determine the some probiotic characteristics. It was observed that 46 of the isolates retained their viability for 120 minutes in artificial gastric juice at pH 3,5, while 25 of isolates could survive in 0,4 % phenol containing media.  $\beta$ -galactosidase activity of isolates were observed between 2,40 and 517,32 nmol/min/OD650/ml, however all of the isolates were found to be capable of producing hydrogen peroxide.

According to the results of these study, strains of Lc14C, Lc37C, Lr12A, Lr26A with the best technological and probiotic properties were used in the production of functional goat yoghurt. Chemical and microbiological properties of yoghurts were investigated during 21 days storage period. It was determined that technological properties of the experimental group yoghurt were similar to the control group, and the added probiotic cultures could survive their viability during storage period.

**Key Words:** Lactic acid bacteria, probiotic, starter culture, yoghurt, goat milk

**Advisor:** Asst. Prof. Dr. Gülden BAŞYİĞİT KILIÇ, Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Engineering Architecture, Department of Food Engineering, Food Science Section.

The present M. Sc. Thesis was supported by by Mehmet Akif Ersoy University BAP Commission under the project no of 0149-YL-12.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve önerileri ile bana yol gösteren, yardım ve desteğini hissettiğim Danışman Hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Gülden BAŞYİĞİT KILIÇ'a,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübesi ile yanımda olan, birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. İlhan Gün'e,

Çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan öğrenci arkadaşım Yasemin GÖKGÖZ ile Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğrencilerine,

Sonsuz sabrı ve desteği ile her zaman yanımda olan Gıda Yüksek Mühendisi Tolga KANKAYA'ya,

0149-YL-12 nolu proje ile tez çalışmama maddi destek sağlayan Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne ve sanayi ile ilgili konularda desteklerinden dolayı Çavuşoğulları Süt ve Gıda Mamülleri Sanayi ve Ticaret A.Ş. (Burdur)'ye

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, desteklerini hep hissettiğim annem Fisun AKPINAR, babam Yavuz AKPINAR, ablam Şevkiye AKPINAR ile ailemin tüm bireyelerine, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Didem AKPINAR,  
BURDUR, 2013

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Şekil 3.1. İzole edilen LAB'nin mikroskopik görünüşü.....	65
Şekil 3.2. İzole edilen LAB'nin mikroskopik görünüşü.....	65
Şekil 3.3. Standart tirozin kurvesi .....	69
Şekil 3.4. Rogosa-peroksidaz agarın H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> oluşumundan önce ve sonra görüntüsü .....	74
Şekil 3.5. Depolama süresince yoğurtların pH değişimi .....	81
Şekil 3.6. Tirozin standart kurvesi.....	82
Şekil 3.7. Yoğurtların depolama süresince tirozin miktarında meydana gelen değişim .....	83
Şekil 3.8. Depolama süresince yoğurtların su salma miktarlarında meydana gelen değişim .....	84

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Çizelge 1.1.</b> Probiyotik ürünlerde kullanılan bazı mikroorganizmalar .....	18
<b>Çizelge 1.2.</b> Çeşitli sütün besinsel içeriği .....	41
<b>Çizelge 2.1.</b> İllere göre yoğurt örneklerinin dağılım tablosu.....	48
<b>Çizelge 3.1.</b> Yoğurt örneklerinden elde edilen izolat sayıları .....	64
<b>Çizelge 3.2.</b> İzolatların asetaldehit üretimi .....	68
<b>Çizelge 3.3.</b> İzolatların proteolitik aktivitesi .....	70
<b>Çizelge 3.4.</b> İzolatların EPS üretimi .....	71
<b>Çizelge 3.5.</b> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> üretimi belirlenen suşlar.....	74
<b>Çizelge 3.6.</b> İzolatların β-galaktozidaz aktivitesi .....	75
<b>Çizelge 3.7.</b> Depolama süresi boyunca yoğurtların mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişim.....	76
<b>Çizelge 3.8.</b> Yoğurtların depolama süresince kuru madde miktarında meydana gelen değişim (%) .....	79
<b>Çizelge 3.9.</b> Yoğurtların depolama süresince yağ miktarında meydana gelen değişim (%) .....	79
<b>Çizelge 3.10.</b> Yoğurtların depolama süresince asitliğinde meydana gelen değişim (% laktik asit) .....	80

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AB</b>	Avrupa Birliği
<b>kg</b>	Kilogram
<b>ABD</b>	Amerika Birleşik Devletleri
<b>LAB</b>	Laktik asit bakterileri
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
<b>EPS</b>	Ekzopolisakkarit
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hidrojen peroksit
<b>µm</b>	Mikrometre
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>G</b>	Guanin
<b>C</b>	Sitozin
<b>KOB/ml</b>	Koloni oluşturan birim/mililitre
<b>KOB/g</b>	Koloni oluşturan birim/gram
<b>CO<sub>2</sub></b>	Karbondioksit
<b>g/l</b>	Gram/litre
<b>mmol/l</b>	Milimol/litre
<b>mg/g</b>	Miligram/gram
<b>mg/l</b>	Miligram/litre
<b>mg/kg</b>	Miligram/kilogram
<b>mg/ml</b>	Miligram/mililitre
<b>GRAS</b>	Generally Recognized as Safe

<b>HMF</b>	Hegzos Mono Fosfat
<b>NaCl</b>	Sodyum klorür
<b>rRNA</b>	Ribozomal ribonükleik asit
<b>WHO</b>	Dünya Sağlık Örgütü
<b>KOB</b>	Koloni oluşturan birim
<b>ECN</b>	<i>E coli Nissle 1917</i>
<b>LDL</b>	Düşük yoğunluklu lipoprotein
<b>HDL</b>	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
<b>ILSI</b>	International Life Science Institute (Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsü)
<b>FOSHU</b>	Spesifik Sağlık Kullanımındaki Gıdalar için Etiketleme Düzenlemeleri
<b>g/g</b>	Gram/gram
<b>UHT</b>	Ultra-High Temperature
<b>MMB</b>	Milk Marketing Board (Süt Pazarlama Komisyonu)
<b>ml</b>	Mililitre
<b>IDF</b>	Uluslararası Sütçülük Federasyonu
<b>MRS agar</b>	de Man Rogasa Sharp agar
<b>HCl</b>	Hidrojen klorür
<b>AOAC</b>	Association of Analytical Communities
<b>M</b>	Molar
<b>NAD<sup>+</sup></b>	Nikotinamid adenin dinükleotid
<b>NADH</b>	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
<b>rpm</b>	Dakikadaki devir sayısı
<b>nm</b>	Nanometre
<b>TCA</b>	Trikloroasetik asit



<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Sodyum karbonat
<b>Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub></b>	Tetrasodyum pirofosfat
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Kalsiyum klorür
<b>KCl</b>	Potasyum klorür
<b>ABTS</b>	2'-azino-di-3-etilbenztiyazolin-6-sülfonik asit
<b>mM</b>	Mikromolar
<b>SDS</b>	Sodyum dodesil sülfat
<b>ONPG</b>	o-nitrofenil-β-D-galaktozidaz
<b>o</b>	Orto
<b>RCA</b>	Reinforced Clostridia Agar
<b>TMAB</b>	Toplam mezofilik aerob bakteri
<b>PCA</b>	Plate Count Agar
<b>EMB</b>	Eosin Metilen Blue Agar
<b>PDA</b>	Potato Dekstroz Agar
<b>TS</b>	Türk Standartları
<b>NH<sub>3</sub></b>	Amonyak
<b>Al-DH</b>	Aldehit dehidrogenaz
<b>R<sup>2</sup></b>	Regresyon katsayısı
<b>nmol</b>	Nanomol
<b>μM</b>	Mikromolar
<b>OPA</b>	o-fitalaldehit

## 1. GİRİŞ

Süt ve süt ürünlerinin tarihsel gelişimi incelendiğinde ilk üretimin milattan önceki yıllara dayandığı görülmektedir. Oldukça uzun bir geçmişe sahip olan süt ve süt ürünleri zaman içerisinde daha da çeşitlenmiş, günümüzde teknolojinin gelişmesi, tüketici isteklerinin ve bilincinin artması ile de önemli bir üretim ve tüketim hacmine ulaşmıştır.

Özellikle fermente süt ürünlerinin sağlık üzerine olumlu etkilerinin belirlenmesi, gelişen teknoloji ile hem üretim hem de depolama olanaklarının iyileşmesi, tüketici istekleri doğrultusunda ürün çeşitliliğinin oluşması, ürünlerin tüketiminde önemli artışların olmasını sağlamıştır. Ürün çeşitliliğinin artışı, dağıtım, depolama ve satış sistemindeki gelişmeler, tüketicilerin gelir düzeyine paralel olarak tüketim alışkanlıkları ve ürün çeşitliliğinin artması, süt ve ürünlerinin tüketimini etkileyen temel faktörler olarak belirtilebilir (Akın, 2006).

Süt üretim ve tüketiminin son yıllardaki değişimi incelendiğinde, dünya süt üretiminin 1998-2008 yılları arasında 134 milyon ton artışla yıllık ortalama % 2,3 büyüme gösterdiği belirlenmiştir (Anonim, 2010a). Dünyada süt üretiminin 2010 yılında % 1,5 artarak yaklaşık 600 milyon tona ulaştığı, ithalatının % 25 artışla 335 bin ton olduğu belirlenmiştir. Türkiye’de ise % 0,6 oranında bir azalış ile 1.091 bin ton içme sütü üretimi gerçekleştirilmiştir. 2010 yılında peynir, ayran, yoğurt ve süt tozu üretimlerinde ise önceki yıllara göre artış gözlenmiştir (Anonim, 2010b).

Üretime paralel olarak Dünya süt tüketimi incelendiğinde yıllık kişi başına içme sütü tüketiminin AB ülkelerinde 89 kg, Avustralya’da 107 kg, ABD’de 83 kg, Türkiye’de ise 26 kg olduğu belirlenmiştir. Dünya süt üretiminin % 86’sını inek sütü üretimi oluşturmaktadır. İnek ve manda sütü dışındaki diğer hayvanlardan elde edilen süt üretimi ile ilgili kesin veriler bulunmamakla birlikte, Dünya keçi sütü üretimi 15 milyon ton, koyun sütü üretimi 9 milyon ton ve deve sütü üretimi 1,6 milyon ton olarak tahmin edilmektedir (Anonim, 2010a). Türkiye’de ise süt üretiminin % 91,7’sini inek sütü, % 6’sını koyun sütü, % 2’sini keçi sütü ve % 0,3’ünü manda sütü oluşturmaktadır.

Süt ürünleri üretiminin Türkiye’deki durumu incelendiğinde; 2010 yılında çiğ süt üretimi 13.650.600 ton, içme sütü üretimi 91.863 bin ton, peynir üretimi 34.555 bin ton, yoğurt üretimi 70.064 bin ton, ayran üretimi 33.779 bin ton olarak belirlenirken (Anonim, 2010c), 2012 yılında içme sütü üretimi 86.616 bin ton, peynir üretimi 53.397

bin ton, yoğurt üretimi 94.977 bin ton ve ayran üretimi 47.054 bin ton olarak belirlenmiştir (Anonim, 2012).

Dünya süt üretimindeki artışa bağlı olarak süt ürünleri üretiminde de artış gözlenmiştir. Süt üretimindeki artış Türkiye'yi Dünya üretiminin 15. sırasına taşımıştır. Türkiye'de bulunan iş yeri sayısının yaklaşık % 15'i süt ve süt ürünleri sektöründe faaliyet göstermektedir. Türkiye'de yıllık ortalama kişi başına 26 kg'ı içme sütü, 140 kg'ı diğer süt ürünleri olmak üzere toplam 166 kg'lık süt ve ürünleri tüketilmektedir (Anonim 2010a).

Laktik asit bakterileri (LAB) uzun yıllardır insan beslenmesinde gıdaların korunması amacıyla kullanılmaktadır. LAB genellikle insan ve diğer hayvanların sindirim sistemlerinde, çiğ sebze, et ve et ürünleri ile tahıllarda bulunan, fermantatif, fakültatif anaerob, aerotolerant mikroorganizmalardır (Carr ve diğ., 2002). Koloni oluşturduğu konakçı ortamına, konakçının yaşına ve bağırsakta koloni oluşturabilme gibi faktörlere bağlı olarak sayıları değişmektedir (De Vries ve diğ., 2006a). Gıda endüstrisinde starter (başlatıcı) kültür olan veya olmayan laktik asit bakteri suşları yaygın olarak kullanılmaktadır. Sahip oldukları probiyotik özellikler sayesinde çoğu LAB gıda ve yemlerde ek kültür olarak kullanılmaktadır (Sanders, 2000; Leroy ve de Vuyst, 2004).

Başlatıcı kültürler; 'sütte bulunan zararlı mikroorganizmaların gelişimini sınırlamak, ürüne özgü tat-aroma ve yapının oluşmasını sağlamak ve her zaman aynı yüksek standart kalitede ürün elde etmek amacıyla süte katılan yararlı mikroorganizmalar' şeklinde tanımlanan, yoğurt ve diğer fermente ürünlerin üretiminde kullanılan özel bakteri kültürleridir (Üçüncü, 2008). Sağlıklı bir ürün elde etmek için süte uygulanan ısıl işlem sonucunda zararlı mikroorganizmaların yanı sıra sütte bulunan, çeşitli süt ürünlerinin üretilmesinde gerekli olan yararlı flora da kaybedilmektedir. Kullanılan başlatıcı kültürler sayesinde kaybedilen yararlı floranın ürüne kazandırılması sağlanır.

Kullanılan başlatıcı kültürler kendi gelişimleri için gerekli besin maddelerini sağlamak için gerçekleştirdikleri parçalama işlemleri sonucunda üründe laktik asit ile istenilen tat, aroma ve yapının oluşmasını sağlamaktadır (Üçüncü, 2008). Başlatıcı kültürler karakteristik özellikleri ile endüstriyel kullanımlara uygunluğun yanı sıra, depolama süresi boyunca standart ürün oluşumunda da etkilidir (Stadhouders, 1986).

Kullanılan kültürler özellikle ürünün; asitliği, kuru madde oranı, aroma bileşenlerinin oluşumu gibi fizikokimyasal, duyuşsal ve mikrobiyolojik özelliklerini etkilemektedir.

Probiyotikler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization, FAO) tarafından ‘uygun miktarlarda tüketildiği zaman konakçıda olumlu sağılık etkisi yaratan canlı mikroorganizmalar’ olarak tanımlanmaktadır (FAO, 2002). Pazarın artan talebini karşılamak, probiyotik kültürlerin daha aktif olduğu fonksiyonel gıdalar elde etmek ve pazarda var olan ürünlerin probiyotik karakteristiğini iyileştirmek için temel probiyotik suşlar üzerine yapılan araştırmalar önem taşımaktadır (Verdenelli ve diğ., 2009). Pazar araştırma raporu ‘Probiyotik Market (2009-2014)’e göre probiyotik ürünler 2008’de dünya çapında 15,9 milyar US \$ paya sahip iken, bu değerin yıllık % 12,6’lık büyüme payı ile 2014’de 32,6 milyar US \$ olması beklenmektedir (Anonim, 2009a). Bu anlamda probiyotiklerin, ürünlerin sağılığı destekleyici ve besleyici özelliklerini arttırmak için özellikle fermente süt ürünlerinde kullanımı hızlı bir artış göstermektedir.

Keçi sütünün beslenme ve sağılık üzerine yararlı etkilerinin kanıtlanması ile özellikle son yıllarda artan keçi sütü üretimi dikkat çekmektedir. Çoğu yerde küçük ölçekli olarak gerçekleştirilen üretim günümüzde endüstriyel boyutta önem kazanırken, sanayileşmeyi sağılayabilmek için çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Türkiye’de üretilen keçi sütü, diğere sütlerle karıştırılarak peynir ya da doğrudan dondurma üretiminde kullanılırken (Pirisi ve diğ., 2011; Savran ve diğ., 2011), dünyada içme sütü olarak tüketimin yanında özellikle peynir ve yoğurda işlenerek tüketilmekte, belli bir kısım ise dondurma ve yağ üretimine ayrılmaktadır.

Probiyotik suşların seçiminde genel fonksiyonel ve teknolojik özellikleri de dahil olmak üzere çeşitli kriterlerin dikkate alınması gerekmektedir (Sanders ve Huis in’t Veld 1999; Šuškováć ve diğ., 2001). Özellikle fermente süt ürünleri tüketiminin fazla olduğu ülkemizde endüstriyel boyutta başlatıcı kültür üretimi yapılmamaktadır. Bu nedenle üreticiler ihtiyaç duydukları kültürleri yurtdışındaki firmalardan temin etmektedir. Bu yolla temin edilen başlatıcı kültürler sebep oldukları yüksek miktarlarda kaynak kaybının yanı sıra, geleneksel Türk kültürünün sahip olduğu tat, aroma ve tekstürden farklı ürünlerin eldesine dolayısıyla da sahip olduğumuz zengin doğal floranın kaybolmasına neden olmaktadır. Yüksek lisans tezi olarak sunulan bu çalışmada sahip olduğumuz doğal floranın fermente süt ürünlerinde kullanılabilirliği ve fonksiyonelliğini belirleyebilmek için ilk olarak farklı illerden toplanan çeşitli yoğurt

örneklerinden izole edilmiş LAB'nin bazı teknolojik ve probiyotik özellikleri incelenmiştir. İzolatların teknolojik özelliklerini belirlemek için sütü koagüle etme, asit oluşturma, asetaldehit üretme, proteolitik aktivite ve ekzopolisakkarit (EPS) üretme yetenekleri incelenmiştir. Teknolojik açıdan en iyi özellik gösteren izolatların pH'sı 3,5 olan yapay mide suyu ortamındaki canlılıkları, % 0,4 fenol toleransları, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) üretme yetenekleri ve β-galaktozidaz aktivitesi incelenerek probiyotik olabilme özellikleri belirlenmiştir. Bu analizlerden elde edilen sonuçlar neticesinde en iyi teknolojik ve probiyotik özellik gösteren izolatlar seçilerek keçi sütü ile yoğurt üretiminde kullanılmıştır. Üretilen deneme grubu yoğurtların 21 günlük depolama süresince mikrobiyolojik, kimyasal ve duyu analizi yapılmış ve sadece ticari kültür kullanılarak üretilen kontrol grubu ile kıyaslanmıştır.

### 1.1. Yoğurt Üretiminde Kullanılan Başlatıcı Kültürler

Süt ürünlerinde başlatıcı kültür olarak genellikle laktobasiller kullanılmakla birlikte, streptokoklar başta olmak üzere propiyonik asit bakterileri (*Propionibacterium shermanii* vb.) ve *Bifidobacterium* cinsi bakteriler de kullanılmaktadır (Yaygın, 1993; Anonim a). Üründe kullanılan, temel faaliyeti karbonhidratların alkol, asetik asit, laktik asit veya karbondioksit (CO<sub>2</sub>) gibi istenilen metabolitlere dönüştürülmesi (Hansen, 2002) olan başlatıcı kültürün seçiminde; ürünün özelliği, yapısı, dokusu, istenen tat ve aroması, üretim koşulları (sıcaklık, pH vb.) önemli kriterlerdir (Abbasi ve diğ., 2009).

İçerdiği mikroflora ile insan sağlığı ve beslenmesinde önemli bir yere sahip olan yoğurt (Deeth ve Tamime, 1981) üretiminde *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (*Str. salivarius* subsp. *thermophilus*) ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (*L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) kullanılmaktadır. *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* Gram pozitif, 0,7-0,9 µm çapında küremsi veya ovalimsi şekillerde, ikili veya uzun zincir halinde bulunur. Homofermantatif bir bakteri olup, laktik asit fermantasyonu sırasında diasetil, asetaldehit, etanol, aseton gibi uçucu aroma bileşenleri ile formik, propiyonik ve bütirik asit üretirken, en fazla % 1 oranında L (+) laktik asit üretir. Optimum gelişme sıcaklığı 37-42 °C'dir

*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Gram pozitif, 2 µm'den az genişliğe sahip, oldukça uzun çubuklar şeklindedir. Fermantasyon sırasında % 1,8 oranında D (-) laktik

asit üretirken, asetaldehit, aseton, az miktarda da etanol ve asetoin üretir. DNA'sındaki G+C oranı % 50,3 olup, optimum gelişme sıcaklığı 42-45 °C'dir (Üçüncü, 2005; Kılıç, 2008).

Yoğurt kültüründeki bu iki mikroorganizma ortak bir yaşama sahip olup, birlikte geliştikleri zaman daha fazla laktik asit ve aroma maddelerinin oluşumunu sağlarlar. Fermantasyonun başlangıcında daha hızlı çalışan *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, asitliği düşürerek, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* için daha uygun bir ortam hazırlar. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ise proteolitik aktivite ile çeşitli aminoasitlerin açığa çıkmasını sağlar (Üçüncü, 2005). Tipik yoğurt aroması, laktik asit, asetoin, diasetil, asetaldehit gibi karbonlu bileşikler tarafından oluşturulmaktadır (Tamime ve Deeth, 1980). Özellikle yoğurtta önemli bir aroma bileşeni olan asetaldehidin yoğurt fermantasyonu sırasında *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* tarafından üretildiği belirtilmektedir (Ott ve diğ., 1999). Bakterilerin gelişimi için önemli olan proteolitik sistem (Hansen, 2002), üründe istenen tat ve aromayı oluşturmada, diğer taraftan asit gelişimi ve ekzopolisakkarit (EPS) üretimi ile de son ürünün tekstürü üzerine katkı sağlamaktadır (De Vuyst, 2000).

Yoğurt üretiminde temel olarak *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kullanılmakla birlikte, üründe istenilen tat, aroma ve yapıya göre farklı destek kültürler de kullanılmaktadır. Kneifel ve diğ. (1993), temel yoğurt kültürlerini ve bunlara ek olarak destek kültürleri içeren 44 farklı ticari kültür kullanarak ürettikleri yoğurtların 2 haftalık depolama süresince mikrobiyel değişimlerini incelemiştir. Depolamanın başlangıcında yoğurtlardaki laktobasil sayısının  $5,5 \times 10^7$ - $6,5 \times 10^8$  KOB/ml; streptokokların ise  $3,5 \times 10^7$ - $1,2 \times 10^9$  KOB/ml arasında değiştiği belirlenmiştir. Yoğurtların % 80'inde kok tipi bakterilerin basillerden daha fazla olduğu, *L. acidophilus* sayısının  $4,0 \times 10^5$ - $2,6 \times 10^8$  KOB/ml; bifidobakterilerin ise  $4,0 \times 10^6$ - $2,6 \times 10^8$  KOB/ml arasında değiştiği kaydedilmiştir. Başka bir araştırmada farklı kültürlerle üretilen yoğurt kremasında 21 günlük depolama süresince *L. acidophilus*'un sayısında hızlı bir düşüş gözlenirken, diğer kültürlerin canlılıklarının depolama süresi sonunda  $10^6$  KOB/g düzeyinde olduğu belirlenmiştir (Ziarno ve Makowska, 2008).

Ng ve diğ. (2011) tarafından *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *L. acidophilus* suşları ile üretilen yoğurtlarda 4 haftalık depolama

süresince suşların canlılığında azalma gözlenirken, glukono delta lakton varlığında canlılıkta önemli bir değişim gözlenmemiştir.

### 1.1.1. Başlatıcı Kültürlerde Aranılan Özellikler

LAB gıda fermantasyonlarındaki temel fonksiyonları ile tüm dünyada oldukça önemli bir yere sahip olup, özellikle laktik asit üretimi ile pH'yı hızlı bir şekilde düşürerek endüstriyel ve geleneksel gıda fermantasyonlarında, fermente gıdaların korunmasına, aroma ve tekstür oluşumuna katkı sağlamak amacıyla başlatıcı kültür olarak kullanılmaktadırlar (de Vries ve diğ., 2006b). Başlatıcı kültürler standart tat, aroma ve kıvama sahip hijyenik ürünlerin eldesi için birçok fermente ürünün üretiminde kullanılırken, antimikrobiyel peptitlerin ve EPS'lerin üretimini de gerçekleştirirler (Ross ve diğ., 2002).

#### 1.1.1.1. Laktik Asit Oluşturma

LAB ilk olarak laktozu monosakkaritleri olan glikoz ve galaktoza parçalar, ikinci aşamada ise glikoz ve galaktozu laktik aside dönüştürürler. Bu aşamada fermantasyon sonucunda % 99 oranında laktik asitle % 1 oranında asetik asit, karbondioksit (CO<sub>2</sub>), etil alkol gibi diğer bileşikler oluşturulan LAB homofermantatif, fermantasyon sonucunda % 70 oranında laktik asit ve % 30 oranında diğer bileşikler oluşturulan LAB ise heterofermantatif olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Üçüncü, 2008).

Yoğurt üretimi sırasında oluşan laktik asit kalsiyumun misellerde kademeli olarak azalmasını, yani kazeinin pH 4,6-4,7'de koagüle olarak yoğurt pıhtısının oluşmasını sağlar. Diğer taraftan oluşan laktik asit yoğurdun karakteristik tat ve aromasına katkıda bulunurken (Chaves ve diğ., 2002), antimikrobiyel etki de göstermektedir. Yoğurt başlatıcı kültürlerinden *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* temel olarak L (+) laktik asit üretirken, D (-) laktik asit *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* tarafından üretilmektedir. Yoğurt genellikle % 45-60 oranında L (+), % 40-55 oranında ise D (-) laktik asit içermektedir (Akın, 2006).

Farklı ticari kültür kullanılarak üretilen yoğurtlarda L (+) laktik asit miktarının D (-) laktik asit miktarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Kneifel ve diğ., 1993). Çiğ keçi sütünden izole edilen *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, *L. helveticus*, *L. plantarum*, *L. delbruecki* subsp. *bulgaricus*, *L. brevis*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus*'dan oluşan 725 laktik asit bakterisinden % 38,6'sının yüksek asitlendirici yeteneğe sahip olduğu belirlenirken (Badis ve diğ., 2004a), Donkor ve diğ. (2005) ürettikleri soya yoğurtlarının laktik asit miktarının depolamanın 28. gününde 0,24 g/l olduğunu bildirmiştir. Zeytinden izole edilen *L. plantarum* suşlarının probiyotik özelliklerini belirlemek için Mourad ve Nour Eddine (2006) tarafından yapılan çalışmada ise izolatların laktik asit üretimlerinin 0,399-1,035 mmol/l arasında değiştiği belirlenmiştir. De Souza Oliveira ve diğ. (2009) *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus* ve *Bf. animalis* subsp. *lactis* kültürlerinin *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ile birlikte üretilen yoğurtlarda depolamanın 1. gününde inülin içeren ve içermeyen ortamlarda sırasıyla 850-990 mg laktik asit/100g; 7. günde 95-1030 mg laktik asit/100g; 1. günde 820-1030 mg laktik asit/100g; 7. günde 930-1080 mg laktik asit/100g arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

#### **1.1.1.2. Tat ve Aroma Maddeleri Üretimi**

Tat ve aroma bir ürünün duyuşal özellikleri üzerinde etkili olan, tüketicinin ürünü tercihinde önemli rol oynayan karakteristik özelliklerden biridir. Fermente süt ürünlerinin aroması üzerinde özellikle uçucu bileşenler önemli rol oynamaktadır (Kalviainen ve diğ., 2003). Başlatıcı kültürlerin en önemli özelliklerinden birisi aroma maddeleri üretimidir. Yoğurdun tipik aroması uçucu olmayan asitler (laktik, pürüvik, okzalik asit), karbonilli bileşikler (aseton, diasetil, asetaldehit), uçucu asitler (formik, propiyonik, bütirik asit) ve yapısında bulundurduğu çeşitli bileşikler ile sağlanmaktadır (Tamime ve Deeth, 1980; Law, 1981; Ott ve diğ., 1997). Yoğurtta gözlenen aroma bileşikleri; üretiminde kullanılan başlatıcı kültürler tarafından sağlandığı gibi kullanılan sütün temel yapısında yer alan aroma bileşenlerinden de kaynaklanmaktadır (Beshkova ve diğ., 1998)

Aroma oluşumu başlatıcı kültürler tarafından üretilen enzimler sayesinde başlatılan bir seri biyokimyasal yolla sağlanmaktadır. Aroma oluşumunda laktozun,



yağın ve kazeinin parçalanmasıyla başlayan üç temel alt yol bulunmaktadır. Glikoliz ile laktoz laktata sonrasında da çeşitli yollarla diasetil, asetoin, asetaldehit veya organik asitler gibi aroma bileşenlerine dönüşürken; lipoliz ile temel aroma bileşenlerinin oluşumunda görevli öncül serbest yağ asitleri olan metilketonlar, ikincil alkoller, esterler ortaya çıkmaktadır. Proteinlerin enzimatik parçalanması ile acılığa sebep olan peptitlerin oluşumu gözlenmektedir (Smit ve diğ., 2005).

Yoğurdun en önemli aroma maddelerinden biri olan asetaldehit, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* tarafından üretilmektedir (Schirch ve diğ., 1985; Ott ve diğ., 1999). Bakteriler tarafından aminoasit, nükleotit ve pirüvat metabolizması gibi çeşitli metabolik yollarla üretilen asetaldehit (Chaves ve diğ., 2002), yoğurt bakterilerinin alkol dehidrogenaz enzimi yokluğundan etanole dönüştürülememekte ve yoğurtta birikmektedir (Lees ve Jago, 1976). Oda sıcaklığı ve basınç altında uçucu olan asetaldehit LAB'nde suşa özgü olarak birkaç alt yolla üretilmektedir (Chaves ve diğ., 2002).

Yoğurtta istenilen tat ve aromanın elde edilebilmesi için bileşiminde gözlenen tüm bu aroma bileşiklerinin uygun bir oranda olması gerekmektedir. Örneğin temel aroma bileşenlerinden olan asetaldehit ve asetonun arasındaki oranın çeşitli araştırmacılar tarafından bildirildiği şekilde 2,8 olması beklenmektedir (Gardini, ve diğ., 1999; Chaves ve diğ., 2002). Diğer taraftan depolama süresince mikrobiyel enzim aktivitesi nedeniyle asetaldehit diğer bileşenlere dönüşmekte ve miktarı azalmaktadır (Güler Akın, 2005)

Özer ve Atasoy (2002) viskoz ve viskoz olmayan yoğurt kültürleri tarafından üretilen asetaldehit miktarını 39,3 ile 14,4 mg/l olarak belirlerken, Bongers ve diğ. (2005) tarafından yoğurt üretimi sırasında asetaldehit üretiminin 17-41 mg/l olduğu tespit edilmiştir. Çelik (2007) tarafından 20 farklı kültür kombinasyonu ile üretilen yoğurtların aroma bileşenlerinin asetaldehit, etanol, aseton, diasetil ve metil etil keton olduğu; bu bileşenlerin de miktarlarının sırasıyla 13,44-25,44, 1,48-7,02, 0,28-0,54, 0,42-1,78, 0,04-0,10 mg/l arasında değiştiği bildirilmiştir. Güler ve Gürsoy Balcı (2011) tarafından farklı kültür ve keçi sütü, inek sütü ve iki sütün karışımı kullanılarak üretilen yoğurtlarda 21 günlük depolama süresi boyunca asetaldehit, diasetil, asetoin, aseton ve etanol varlığı tespit edilmiştir. İnek, keçi ve iki sütün karışımı ile üretilen yoğurtlarda CH-1 kültürü kullanıldığında asetaldehit miktarı sırasıyla 40,11, 46,20, 43,0 mg/kg

olarak; YF-3331 kültürü kullanıldığında ise 32,11, 39,78, 39,15 mg/kg olarak belirlenmiştir. Probiyotik *L. plantarum* suşları kullanılarak yağlı sütte üretilen yoğurtlarda asetaldehit, aseton, diasetil, etanol gibi aroma bileşenlerinin belirlendiği, 21 günlük depolama süreci sonunda belirlenen asetaldehit miktarının azaldığı Başyigit Kılıç ve diğ. (2012) tarafından bildirilmiştir.

### 1.1.1.3. Proteolitik Aktivite

Mikroorganizmaların salgıladıkları proteolitik enzimlerle proteinlerin parçalanması işlemi olan proteolitik aktivite sonucu oluşan aminoasitler LAB tarafından kullanılarak, üründe asitlikle birlikte istenilen aroma ve tat oluşumunda da rol oynamaktadır (Üçüncü, 2008). LAB'nin sahip olduğu proteolitik sistem protein ve peptit yapımı ile bakterilerin gelişimi için gerekli iken, aynı zamanda olgunlaşma ve fermantasyon süresince ürünlerde karakteristik reolojik ve organoleptik özelliklerin oluşmasını da desteklemektedir (Law ve Kolstad, 1983). Süt içerisinde serbest aminoasitlerin oluşumu *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*'un gelişimini etkilerken, yoğurdun jel yapısı üzerinde de etkili olarak fiziksel yapısını desteklemektedir (Akın, 2006).

Diğer taraftan LAB'nin gösterdiği proteolitik aktivite süt bileşenlerinden sağlık üzerine olumlu katkıları bulunan biyoaktif peptit oluşumunu da desteklemektedir (Wouters ve diğ. , 2002). Oluşan bu biyoaktif bileşenler bağırsak sisteminden emilimi arttırmakta, bağışıklık sistemini desteklemekte, antihipertansif, antitrombotik ve antimikrobiyel etki sağlarken, özellikle kalsiyum gibi minerallerin taşınmasında da rol oynamaktadır (Leroy ve De Vuyst, 2004).

Yüksekdağ ve diğ. (2004) tarafından kefirde izole edilen *Lc. lactis*, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, *E. durans* ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris* suşlarından en yüksek proteolitik aktiviteyi 0,09 mg/ml tirozin ile *Lc. cremoris* Z20S'nin gösterdiği belirtilmiştir. Mourad ve Nour Eddine (2006) tarafından *L. plantarum* suşlarında 1,49-5,25 mg/l arasında değişen oranlarda proteolitik aktivite tespit edilmiştir.

#### 1.1.1.4. Ekzopolisakkarit Üretimi

Ekzopolisakkarit (EPS); LAB, propiyonik asit bakterileri ve bifidobakterler tarafından sentezlenerek hücre dışına bırakılan polisakkaritler olup (Laws ve diğ., 2001; Ruas Madiedo, 2002a); hücre duvarına bağlanan EPS'ler kapsüler, ortamda serbest halde bulunanlar ise mukoz ekzopolisakkarit olarak sınıflandırılmaktadır (Petersen, 2000; Laws ve diğ., 2001). EPS'ler tek tip monosakkaritten meydana gelmişse homopolisakkaritler, tekrarlanan polisakkarit gruplarıyla fosfat, asetil ve gliserol gibi karbonhidrat olmayan gruplardan oluşmuşsa heteropolisakkaritler olmak üzere iki grupta sınıflandırılmaktadır (Duboc ve Mollet, 2001; Ruas Madiedo, 2002b). EPS sentezini sağlayan gen plazmid üzerinde veya termofilik LAB'de olduğu gibi kromozomda da bulunabilmektedir (De Vuyst ve diğ., 2001).

Ticari yoğurt kültürlerinde kullanılan *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* tarafından üretilen EPS'nin 50-350 mg/l (Cerning ve diğ., 1988; Doco ve diğ., 1990); *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* tarafından üretilen EPS'nin ise 60-150 mg/l arasında değiştiği belirtilmektedir (Cerning ve diğ., 1986; Garcia-Garibay ve Marshall, 1991). Bazı LAB tarafından üretilen EPS'ler fonksiyonel özellikleri ve yarattığı olumlu sağlık etkileri ile ekonomik olarak önem taşımaktadır (Welman ve Maddox, 2003).

EPS üretimi sıcaklık, pH, karbonhidrat kaynakları ve büyüme fazı gibi faktörlerden etkilenmektedir. EPS'ler üretici mikroorganizma tarafından enerji kaynağı olarak kullanılmayıp; fermente süt ürünlerinin stabilitesini, reolojisini ve tekstürel yapısını geliştirirken, hücreyi faj saldırılarına, toksik bileşiklere, ozmotik strese ve kurumaya karşı korumaktadır. Aynı zamanda biyofilm oluşumu ve hücrenin katı yüzeylere tutunmasında etkili olmaktadır (De Vuyst ve Degeest, 1999; Broadbent ve diğ., 2001; Ruas Madiedo, 2002b). LAB tarafından üretilen ve GRAS (Generally Recognized as Safe) statüsünde yer alan EPS'ler (Faber ve diğ., 1998); gıda endüstrisinde jelleştirici, emülsifiye ve stabilize edici özellikleri ile kullanılmaktadır. Özellikle yoğurtta karşılaşılan serum ayrılması ve gevşek yapıya karşı kullanılan katkı maddelerinin tüketiciler tarafından tercih edilmemesi ve bu kusurların doğal yollarla giderilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan heteropolisakkaritler viskozite ve su tutma kapasitesinin geliştirilmesini sağlarken, son ürünün tat ve aroması üzerine de olumlu etkiler sağlamaktadır (Duboc ve Mollet, 2001).

Hassan ve diğ. (1996) tarafından yapılan araştırmada jelleştirici kùltùrlerle ùretilen yoğurtların su salma oranlarında azalma gözlenmiştir. Ticari kùltùre (% 1,5) ek olarak EPS ùretimi belirlenmiş *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* B3 ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* W22 suşları ile ùretilen yoğurtlarda daha yüksek EPS ùretimi belirlenmiştir. Viskozite değerleri açısından da bu suşların kullanıldığı yoğurtların daha kıvamlı olduğu belirtilmiştir (Gürsoy ve diğ., 2006). Purwandari ve diğ. (2007), *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ST 285 ve ST 1275 suşlarını kullanarak, farklı sıcaklıklarda ùrettikleri set tipi yoğurtların depolama süresi boyunca teknolojik ve reolojik özelliklerini incelemişlerdir. Yapılan alışmada ST 1275 suşu ile ùretilen yoğurtların asitliğinin daha hızlı geliştiği, düşük sineresiz ve yüksek akış indeksine sahip olduğu belirtilmiştir.

Mikroorganizmaya kazandırdığı özellikler, üründe sağladığı yararlar ve insan sağlığı üzerine yarattığı etkiler ile önem taşıyan EPS'lerin ùretiminin çeşitli modifikasyonlarla arttırılabileceği savunulmaktadır. Bu amaçla Yüksekdağ ve Aslım (2008) tarafından yapılan bir çalışmada çeşitli karbon kaynaklarının ve bu kaynakların miktarlarının EPS ùretimi üzerine etkileri incelenmiştir. Glikoz, fruktoz, laktoz, sakkaroz gibi karbon kaynakları 5, 10, 15, 20, 25, 30 g/l olacak şekilde hazırlanan modifiye besiyerlerinde *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* B3 ve G12 ile *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* W22 suşlarının EPS ùretimi gözlenmiş, bu ortamlardan en yüksek EPS ùretimini 30 g/l glikoz içeren besiyerinde gözlendiği belirtilmiştir. Normal şartlarda 50-60 mg/l arasında değişen oranlarda EPS ùretimi olduğu belirtilen *L. casei*'nin ortama glikoz veya sukroz ilavesi ile EPS ùretimini 200 mg/l olabildiği belirtilmektedir (Cerning, 1995). Diğer taraftan düşük sıcaklıklarda da EPS ùretimini arttığı kaydedilmiştir (Mozzi ve diğ., 1995).

Ürùnlere kazandırdığı teknolojik özelliklerin yanı sıra EPS'lerin sağlık üzerine olumlu etkileri de bulunmaktadır. EPS'ler sindirim sistemindeki bakteriler tarafından paralanamadıkları için prebiyotik özellik göstermektedir. Diğer taraftan yapılan çalışmalarla EPS'lerin bağışıklık sistemini geliştirici, kolesterolü düşürücü, antiülser ve antitümör etkisinin olduğu belirtilmektedir (De Vuyst ve Degeest, 1999; O'Connor ve diğ., 2008). Nakajima ve diğ. (1995) tarafından yapılan bir çalışmada *Lc. lactis* subsp. *cremoris* SBT 0495 tarafından ùretilen EPS'lerin farelerde karın içi antikor ùretimini arttırdığı belirtilirken, Kitazawa ve diğ. (1998) tarafından EPS üreticisi *L. delbrueckii*

subsp. *bulgaricus* OLL 1073R-1'in antitümör aktivitesine sahip olduğu kaydedilmiştir. Diğer taraftan kefir daneleri tarafından üretilen suda çözünür EPS'nin ağız yolu ile tüketiminin tümör gelişimini geciktirici etkisi olduğu belirtilmiştir (Zubillaga ve diğ., 2001).

#### 1.1.1.5. Faj Dirençliliği

Başlatıcı kültürlerde aranan en önemli özelliklerden birisi faj dirençliliğine sahip olmasıdır. LAB, endüstriyel açıdan önem taşıyan pek çok fermantasyon ve üretim ortamlarında fajlara karşı duyarlılık göstermektedir. Faj duyarlılığı gösteren suşlar asitliğin yavaş gelişmesi veya hiç gelişmemesine neden olarak düşük kaliteli ürün eldesine ya da ürün kayıplarına yol açmaktadır (Mahony ve diğ., 2012). Bakteriyofajlar, 1915 ve 1917 yıllarında Frederick Twort ve Félix d'Hérelle tarafından bakteriyi lize ederek ölümüne neden oldukları için 'bakteri yiyiciler' olarak ifade edilmiştir (Parisien ve diğ., 2008). Bakterilerin zorunlu parazitleri olan bakteriyofajlar, temelde nükleik asit ve proteinlerden oluşmaktadır. Çoğunda DNA bulunmakla birlikte bir kısmında da yalnız RNA bulunabilmektedir. Ağırlıklarının % 60'ı protein ve % 40'ı nükleik asit olmakla birlikte; tipik olarak baş, boyun, kuyruk, taban ve taban uzantılarından oluşmaktadır. Hiçbir metabolik düzeneğe sahip olmadığından, kendi makromoleküllerini sentezleyebilmek için aktif bakteri hücresine ihtiyaç duyarlar (Bernhardt ve diğ., 2002; Üçüncü, 2008). Fajlarla enfekte edebildikleri bakteri türü, tipi ve suşu yüksek oranda özgüdür (Parisien ve diğ., 2008; Schroeter ve Klaenhammer; 2009).

Fajın litik döngüsü sonunda karşılaşılan en yaygın durum bakteriyi lize etmesidir. Bu nedenle özellikle süt ürünleri sanayinde başlatıcı kültürler üzerinde oluşturduğu sorunlar nedeniyle önem taşımaktadır. Peynir işletmelerinde sıklıkla karşılaşılan faj problemi ile ilk fajın keşfedilmesinin ardından *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*'a özgü ilk faj 1952'de; *L. bulgaricus* subsp. *bulgaricus*'a özgü ilk faj ise 1974 yılında keşfedilmiştir (Tunail ve diğ., 2000). İşletmelerde sürekli olarak aynı kültürün kullanılması ve hijyen koşullarına dikkat edilmemesi faj riskini ve infeksiyonun negatif etkilerini arttırmaktadır (Mahony ve diğ., 2012). Süt sanayinde gözlenen faj problemlerini önleyebilmek için, faja dirençli suşların geliştirilmesi,

alternatif kültür kombinasyonlarının oluşturulması yönünde yapılan çalışmalar hız kazanmıştır.

*Str. salivarius* subsp. *thermophilus*'u enfekte eden fajlar özellikle yoğurt sanayinde önemli problemler yaratmaktadır. Bu nedenle bakteriyofajlara duyarsız yeni suşların geliştirilmesi, üzerinde durulan yaklaşımlardandır. Mills ve diğ. (2007) *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*'un faja dirençli mutantını elde etmek için *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*'u katı besiyeri ortamında enfekte ederek, süt ortamında geliştirmişlerdir. Sürekli pasajlama işlemi sonrasında bakteriyofaja dirençli farklı mutantlar elde etmişlerdir. Elde edilen mutantların ana suşa göre fajlara dirençli olduğu ve başlatıcı kültür olma özelliklerini korudukları belirtilmiştir. Vinderola ve diğ. (2007) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, faja duyarlı ticari *L. delbrueckii* suşları ve bu suşlardan doğal olarak faja dirençli mutantlar izole edilerek, farelerin sindirim sistemi mukozal bağışıklığı üzerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla asit, safra tuzları ve lizozime karşı toleransları incelenen mutantların suşa bağlı olarak bu ortamlarda 1,0-3,7 log birim kadar canlılıklarını kaybettikleri, tüm suşların pH'sı 3,5 olan yapay mide suyu ortamına dirençli olduğu belirlenmiştir. Faja duyarlı ve dirençli suşlar farelere 2, 5 ve 7 gün boyunca verildiğinde, mutantların ince bağırsak bağışıklık mekanizmasını arttırdığı ve izole edilen faja dirençli suşların endüstriyel açıdan fonksiyonel gıdalarda kullanılabileceği belirtilmiştir. Binetti ve diğ. (2007), 9 adet ticari *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* suşundan izole ettikleri doğal faj dirençli 100 mutantın faj direnç mekanizmasını incelemiş ve 2 suştun faj adsorbsiyonunu engellediğini, diğer 2 suşun ise restriksiyon-modifikasyon sisteminin olduğunu belirtmişlerdir. Guglielmotti ve diğ. (2007) tarafından yapılan çalışmada ise, faja karşı duyarlı 3 adet *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşu ve bu suşlardan elde edilen doğal faja dirençli mutantların bazı biyolojik ve probiyotik özellikleri incelenmiştir. pH'sı 2,0 olan yapay mide suyu ortamında canlı hücre sayısının çok az oranda düştüğü, lizozim ve safra tuzlarına karşı toleranslı oldukları, laktik asit üretimlerine bağlı olarak patojenlere karşı antimikrobiyel etki yarattıkları ve Caco-2/TC-7 hücre hattına tutunabildikleri belirlenmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada ise Almanya'da süt işletmelerinden izole edilen 56 adet *Lc. lactis* fajının sıcaklığa karşı dirençleri incelenmiş ve izolatlardan % 40'ının süt içerisinde 80 °C'de 5 dk süre ile ısıtılması ile canlılıklarını korudukları belirtilmiştir. En dirençli faj izolatu ekşi kremadan izole edilen ve 97 °C'de 5 dk ısıtım sonrasında bile plak

oluşturabilen P1532 olarak belirlenmiş, diğer dirençli suşun ise 95 °C’de 5 dk ısıtma işlem sonrasında plak oluşturabilen P680 olduğu gözlenmiştir. P1532 izolatının inaktive edilebilmesi için 72 °C’de 112 dk süre ile pastörizasyon uygulanması gerektiği belirtilmiştir (Atamer ve diğ., 2009).

#### 1.1.1.6. Diğer Özellikler

Mikroorganizmaların başlatıcı kültür olarak değerlendirilebilmesi için temel olarak laktik asit ile tat ve aroma maddelerini oluşturma, belirli düzeyde proteoliz, lipoliz ve EPS üretimine sahip olması istenilen özelliklerdir. Diğer taraftan kullanılan kültürlerin faj dirençlilikleri, antimikrobiyel etki göstermesi ve tuza toleransları bu mikroorganizmaların endüstriyel boyutta değerlendirilebilmesinin ön şartlarıdır (Hebert ve diğ., 2000; Üçüncü, 2005).

Gıda koruma yöntemlerine karşı artan ilgi, tüketici ve çevre sağlığını koruma isteği, ürünlerde doğallık şartını ön plana çıkarmıştır (Altieri ve diğ., 2005). LAB’nin tüketiminin güvenli olması ve ürünün raf ömrü boyunca canlılıklarını koruyup, üründe baskın flora olarak kalabilmeleri, gıda koruma amaçlı kullanılmalarının temel nedenleri arasındadır (İbrahim ve Desouky, 2009).

Sütün mikrobiyel yapısı ve sahip olduğu doğal enzim sistemi, ürün kalitesini etkileyen temel faktörlerdir. Özellikle çiğ süttten veya yeterli derecede ısıtma işlem görmemiş süttten üretilen ürünler sahip olduğu patojen mikroorganizmalar nedeniyle insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler yaratabilmektedir. *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella* gibi patojen mikroorganizmalar süt ürünlerinde canlılığını koruyabilen ve kolaylıkla çoğalabilen mikroorganizmalardır (De Buyser ve diğ., 2001). Özellikle ürünlere süttten gelen veya yapım aşamasında bulaşan patojen mikroorganizmalar etkin bir başlatıcı kültür kombinasyonunun kullanılması ile büyük ölçüde önlenmektedir (Üçüncü, 2005; Sameen, 2009). Başlatıcı kültürlerin fermantasyon süresi boyunca ürettikleri biyoaktif metabolitler antimikrobiyel etkinin başlıca kaynağıdır. Fermantasyon süresince oluşturulan laktik asit başta olmak üzere organik asitler, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, karbondioksit, asetaldehit, diasetil ve bakteriyosin gibi bileşikler üründe kullanılan kültürlerin gösterdiği antimikrobiyel etkinin temel kaynaklarıdır (Guerra ve Pastrana, 2002; Stanton ve diğ., 2005).

Fermentasyon süresince oluşan organik asitler ortamdaki pH düşüşüne bağlı olarak patojen mikroorganizmalarda glikolizin önlenmesi, membran geçirgenliğinin bozulması ve madde taşıma sisteminde gözlenen bozukluklara bağlı olarak mikroorganizmanın inhibisyonunu sağlamaktadır (Yang, 2000; Schnürer ve Magnusson, 2005). Hücresel proteinlerin temel yapıları üzerinde oksitleyici ve tahrip edici özelliğe sahip olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yanı sıra; anaerobik bir ortam oluşumunu sağlayan, hücre zarında birikerek zar geçirgenliğini bozan karbondioksit (Yang, 2000; Kılıç, 2008), diasetil ile yağ asitleri de antimikrobiyal etki gösteren bileşikler arasındadır (Schnürer ve Magnusson, 2005). Cezayir'e özgü fermente bir süt ürünü olan Raib'den izole edilen 52 adet LAB'sinden 13 tanesinin indikatör mikroorganizma olan *L. monocytogenes*'e karşı inhibitör etki gösterdiği belirtilmiştir. Seçilen 5 izolat tarafından üretilen bileşiklerin 120 °C'de 20 dk boyunca stabil kalabildikleri belirlenirken, asidik şartlar altında bakteriyosin aktivitesinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Abdelbasset ve Djamila, 2008). Thu ve diğ. (2011) tarafından yapılan çalışmada *L. plantarum* suşlarının farklı kombinasyonlarının ürettikleri laktik asit, asetik asit ve bakteriyon ile *Pediococcus acidilactici* üzerinde inhibitör etki oluşturduğu belirtilmiştir.

Farklı bakteri suşları tarafından üretilen protein veya peptit yapıda, antibiyotik benzeri maddeler olarak ifade edilen bakteriyosinler; gıda zehirlenmeleri ve bozulmalarına neden olan pek çok Gram pozitif bakteriye karşı antimikrobiyel etki göstermektedir. Özellikle üretildikleri suşlar ile yakın benzerlik gösteren suşlara karşı etkilidirler (Gálvez ve diğ., 2008; Dobson ve diğ., 2012). Bakteriyosinler ökaryotik hücreler için toksik olmayan, GRAS olarak kabul edilmiş, ribozomal olarak sentezlenen bileşiklerdir. Doğal gıda koruma yöntemlerine yönelimin artmasıyla birlikte süt kaynaklı substratlar üzerinde geliştirilen bakteriler tarafından üretilen, liyofilize halde ticari olarak ürünlerde de kullanılan bakteriyosinler önem kazanmıştır. Bakteriyosin üretimleri iyi bilinen LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin başında nisin gelmektedir. *Lc. lactis* tarafından üretilen, 34 aminoasitli bir polipeptit olan nisin Gram pozitif bakteriler üzerinde antimikrobiyel etkiye sahip olup, çoğu süt ürününde kullanılmaktadır (Niku Paavola ve diğ., 1999; Gálvez ve diğ., 2008). Nisinin yanı sıra laktisin, pediosin, enterosin gibi farklı LAB tarafından üretilen bakteriyosinler de bulunmaktadır.



Fariás ve diğ. (1999) tarafından enterosinin keçi peynirinin olgunlaşması süresince *L. monocytogenes* sayısını 9 log<sub>10</sub> KOB/g azalttığı belirtilirken, Morgan ve diğ. (2001) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise laktisin içeren yoğurt ve peynirlerde 2 saat süre ile *L. monocytogenes* canlı hücre sayısının % 85-99 arasında azaldığı belirtilmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada *L. plantarum*'un ürettiği bakteriyosin sayesinde *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* ve *E. coli* üzerinde inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir (Mollendorff ve diğ., 2006). Taş ve Erginkaya (2008), tarafından yapılan çalışmada, *E. coli* O157:H7 ATCC 35150 üzerine çeşitli LAB'nin etkisi incelenmiş, incelenen *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. casei* suşları arasından *L. casei* ve *L. acidophilus*'un antimikrobiyel etkisinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir.

Kültürlerin endüstriyel boyutta kullanılmasını etkileyen bir diğer özellik ise göstermiş olduğu tuz toleranslarıdır. LAB'nin sahip oldukları tuz toleransı kültürlerin özellikle peynir üretiminde kullanılabilmesi açısından önem taşımaktadır. Ayad (2009) tarafından yapılan çalışmada tuz toleransına sahip başlatıcı kültürlerle üretilen % 3 ve % 5 tuz içeren Domiati peynirinde kültürlerin 2 aylık olgunlaşma süresi boyunca canlılıklarını korudukları belirlenmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada ise % 0,50, % 1,25, % 1,80, % 2,25, % 2,50, % 3,0 oranlarda NaCl ilavesi ile üretilen edar peynirinde NaCl miktarının azalmasının; pH düşüşünü sağlarken, su aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir. Artan su aktivitesine bağlı olarak başlatıcı ve başlatıcı olmayan LAB'nin gelişimi gözlenmiştir (Rulikowska ve diğ., 2013).

## **1.2. Probiyotikler**

### **1.2.1. Probiyotiklerin Tanımı**

İlk kez Bulgarlar'ın diğer popölasyonlardan daha uzun yaşamaları ve bunun da canlı bakteri içeren fermente süt ürünleri tüketimine bağlı olduğunu savunan Elie Metchnikoff ile gündeme gelen probiyotik ifadesi (Twetman ve Stecksén Blicks, 2008) Yunanca'da 'yaşam karşıtı' anlamına gelen 'antibiyotik' kelimesinin tersine 'probios' yani 'yaşam' anlamına gelmektedir (Sanders, 2000; Gülmez ve Güven, 2002; Longdet ve diğ., 2011). Probiyotikler 1974 yılında Parker tarafından sindirim sisteminde bulunan

mikroorganizmayı dengede tutmak için yardımcı olan maddeler ve mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır. Ancak bu tanımın çok geniş olarak mikroorganizma kültürlerini, metabolitlerini ve antibiyotikleri de kapsadığı görülmektedir (Fuller, 1999; Salminen ve diğ., 1999). Fuller tarafından, bağırsak hijyeni ve intestinal mikrofloranın gelişimini teşvik eden, konakçı üzerinde yararlı etkiler meydana getiren, mikrobiyel, canlı gıda preparatı olarak yapılan probiyotik tanımı (Fuller, 1989), 1992 yılında Havenaar ve Huis in't Veld tarafından 'insan ve hayvanlarda yararlı mikrofloranın etkilerini arttıran tek veya karışık canlı mikroorganizma kültürü' olarak genişletilmiştir. FAO tarafından 'uygun miktarlarda tüketildiği zaman konakçıda olumlu sağlık etkisi yaratan canlı mikroorganizmalar' olarak tanımlanan probiyotikler (FAO, 2002), en geniş tanımı ile insan ve hayvanların doğal mikroflorasına ait özellikleri geliştiren, tüketimleri sonucunda ağızda, sindirim sisteminde, üst solunum yollarında ya da ürogenital kanallarda yararlı etkileri ile konakçının sağlığını koruyan, buralarda oluşan enfeksiyonların iyileşmesine katkıda bulunan, tek veya karışık mikroorganizma kültürleri olarak ifade edilmektedir (Klaenhammer ve Kulen,1999).

İnsan sindirim sistemi  $10^{13}$ - $10^{14}$  düzeyinde, çoğunluğu anaerob bakterilerden oluşan geniş bir mikrofloraya sahiptir (Hopkins ve diğ., 2001). Sahip olunan bu insan bağırsak mikroflorası üzerinde olumlu etkiler meydana getiren probiyotikler, konakçı üzerinde aynı zamanda;

- \*antikarsinojenik ve antimutajenik etki,
- \*laktoz intolerans belirtilerini azaltma,
- \*serum kolesterolü düşürme,
- \*kan basıncını düşürme,
- \*mukozal bütünlüğü koruma,
- \*bağırsak rahatsızlıklarının önlenmesi,
- \*bağışıklık sistemine etki,
- \*patojenleri engelleme,
- \*metabolizmaya yardımcı olma,
- \*bağırsak doğal florasının korunması,
- \*vitamin üretimi

gibi yararları da sağlamaktadır (Klaenhammer ve Kulen,1999; Yıldız, 2010; Saad ve diğ, 2013).

## 1.2.2. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

Probiyotik mikroorganizmaların en önemli grubunu fermente süt ürünlerine eklenen veya liyofilize formda kullanılan laktik asit üreten laktobasil ve bifidobakteriler oluşturmaktadır (Ziemer ve Gibson, 1998). LAB'nin yanı sıra bazı bakteri cinsleri, maya ve küf türlerinin de probiyotik ürünlerin hazırlanmasında kullanıldığı belirtilmektedir. Probiyotik olarak kullanılan en yaygın LAB; *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Bifidobacterium*'dur. *Bacillus*, *Aspergillus* ve *Saccharomyces* de probiyotik amaçlı kullanılan diğer mikroorganizmalar arasında yer almaktadır (Tannock, 1997; Roberfroid, 2000; Gülmez ve Güven, 2002; Liong, 2008).

**Çizelge 1.1.** Probiyotik ürünlerde kullanılan bazı mikroorganizmalar (Saad, ve diğ., 2013).

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Diğer LAB	Diğerleri
<i>L. acidophilus</i>	<i>Bf. adolescentis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. coli suş Nissle</i>
<i>L. casei</i>	<i>Bf. animalis</i>	<i>Lc. lactis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>Bf. bifidum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. curvatus</i>	<i>Bf. breve</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
<i>L. delbrueckii</i>	<i>Bf. infantis</i>	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	
<i>L. farciminis</i>	<i>Bf. lactis</i>	<i>Str. thermophilus</i>	
<i>L. fermentum</i>	<i>Bf. longum</i>	<i>Str. intermedius</i>	
<i>L. gasseri</i>			
<i>L. johnsonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

Yüzyıllardır geleneksel gıdaların hazırlanmasında, depolanmasında ve silaj üretiminde kullanılan LAB, metabolizmaları sırasında laktozu parçalayarak başlıca son ürün olarak laktik asit üreten mikroorganizmalardır (Klein ve diğ., 1998). Besin içeriği yüksek ortamlarda bulunan LAB, bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi ile bir kat daha önem kazanmıştır. LAB'den özellikle laktobasiller bağırsak florasını düzenlemek ve enfeksiyonları önlemek amacıyla kullanılmaktadır (Kılıç, 2008).

Laktobasiller; Gram pozitif, sporsuz, DNA'larında genellikle % 50'den daha az guanin+sitozin (G+C) içeren, katalaz negatif, fakültatif anaerob, çubuk veya kokobasillerdir (Hammes ve Vogel, 1995; Gomes ve Malcata, 1999). Homofermantatif olanlar; glikozu glikoliz (Embden-Meyerhof-Parnas) yolu ile parçalayarak fermantasyon sonucu % 95-100 oranında laktik asit üretirler (Evren ve diğ., 2011; Salminen ve von Wright, 1998). Heterofermantatif olanlar ise; glikozu Hegzos Mono Fosfat (HMF) yolu ile parçalayarak fermantasyon sonucu laktik asit yanında yüksek oranda etanol, asetik asit, karbondioksit (Ouweland ve Vesterlund, 1998) gliserol, mannitol ve fruktoz oluştururlar (Evren ve diğ., 2011). Diğer bakterilere kıyasla daha kompleks besinsel ihtiyaçları olmakla birlikte, fermantasyon sonucu ürettikleri metabolitler sayesinde diğer mikroorganizmalar üzerinde inhibitör etki göstermektedirler (Law ve Kolstad, 1983). Bifidobakteriler, Gram pozitif, spor oluşturmayan, hareketsiz, polimorfik, karakteristik olarak Y veya V şeklinde olan, katalaz negatif, kenarları yuvarlak, kısa çubuklardır. Obligat anaerob olup, bazı türleri düşük miktarlardaki oksijeni tolere edebilmektedir (Başyigit, 2004; O'Connell, 2009). Bu bakteriler gaz oluşturmazlar, mono, di ve oligosakkaritleri katabolize edebilme özellikleri ile sindirim sisteminde rekabetçi bir yapı kazanırlar (Biavatti ve diğ., 2000). Kanalizasyon suları, insan ve hayvan dışkıları, sığır rumeni, bal arıları gibi pek çok kaynaktan izole edilebilirler (Felis ve Dellaglio, 2007).

Enterokoklar Gram pozitif, aerobik veya fakültatif anaerob, katalaz negatif, bazı istisnalar dışında hareketsiz, tek, çift veya kısa zincirler halinde bulunan koklardır. Genellikle % 6,5 NaCl varlığında gelişebilirken, çoğu 10 ve 45 °C'de üreyebilmektedir (Hardwood ve diğ., 2000; Fisher ve Phillips, 2009). Başta süt ürünleri olmak üzere farklı gıdalarda ve hemen her yerde bulunabilirler. Besin gereksinimlerinde daha seçici olup, geniş bir pH aralığında gelişebilirler. Probiyotik karakteri sayesinde süt

ürünlerinde kullanılabilirliğinin yanı sıra gıda kaynaklı patojenler olarak da görülmektedir (Valenzuela ve diğ., 2010).

### **1.2.3. Probiyotik Mikroorganizmalarda Aranılan Özellikler**

Mikroorganizmaların probiyotik olarak tanımlanmasında kesin kriterler bulunmamakla birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalarla çeşitli kriterler belirlenmiştir. Oluşturduğu yararlı sağlık etkileri nedeniyle özellikle insandan ve doğal fermente gıdalardan izole edilen LAB'nin kullanımına artan bir ilgi oluşmuştur (Lim ve Im, 2009). Probiyotik olarak seçilen suşların insan orijinli olması ve GRAS statüsünde yer alması gerekmektedir (Rönkä ve diğ., 2003). Probiyotik bakterilerin yararlı etkilerini gösterebilmesi için gıda üretim işlemleri sırasında ve insan ekosisteminde canlı kalabilmesi gerekir. Bu amaçla insan sindirim sistemine benzer koşullar altında bakteriyel davranışların incelenmesi büyük önem taşımaktadır (Zago ve diğ., 2011; Lo Curto ve diğ., 2011). Mikroorganizmanın maruz kaldığı stres lizozim içeren tükürükle birlikte ağızda başlar ve pH'sı 1,5-3,0 olan mide ile safra içeren üst bağırsakta devam eder (Corzo ve Gilliland, 1999). Asit ve safra toleransı midedeki asidik ortama ve ince bağırsak başlangıcındaki safra asidine direnci ile probiyotik bakterilerin sindirim sisteminden geçişi boyunca canlılığını belirleyen temel faktörlerdir (Prasad ve diğ., 1998; Park ve diğ., 2002). Ayrıca mukozal yüzeye tutunması, güvenilir olması ve antimikrobiyel aktivite göstermesi de probiyotik bir mikroorganizmanın sahip olması gereken diğer özelliklerdir (Havenaar ve Huis in't Veld, 1992; Çakır, 2003; Saad ve diğ., 2013).

Diğer taraftan probiyotik suşların birbirleriyle ve geleneksel başlatıcı kültürlerle ilişkisi, ürünün son kullanma tarihine kadar canlı hücre sayısını koruması dikkat edilmesi gereken diğer noktalardır (Tamime ve diğ., 2005; Başyigit ve diğ., 2006; Başyigit Kılıç, 2009).

Probiyotik bir mikroorganizmanın seçiminde genel olarak;

- \* suşun kökeni,
- \* suşun moleküler tanı yöntemleri kullanılarak iyi karakterize edilmiş olması,
- \* güvenilir olması,
- \* ürünlerde canlılığını koruyup aktif olabilmesi,

- \* düşük pH ve mide asidine tolerans,
- \* safra tuzu toleransı,
- \* insan sindirim sisteminde epitel hücrelere tutunabilme özelliği,
- \* sindirim sisteminde kolonize olup gelişebilmesi,
- \* patojen mikroorganizma gelişimini inhibe etmesi gibi özellikler aranmaktadır (Tuomola ve diğ., 2001; Ouwehand ve diğ., 2002; Grmanová ve diğ., 2010; Saad ve diğ., 2013).

Bu özellikleri ile probiyotik olarak kabul edilen mikroorganizmalar arasında ilk sırayı LAB almaktadır. Çoğu ticari firma tarafından üretilen ve içerdiği LAB sayesinde yararlı sağlık etkileri yaratan probiyotik ürünler uzun yıllardır tüm dünya pazarlarında yerini almıştır. LAB içeren bu ürünler sıvı, toz, granül ve tablet formlarında olabilmektedir. Üretilen bu ürünlerde tek bir bakteri suşu kullanmak yerine çoğu suşun kombine olarak kullanılması üründe yarattığı fizyokimyasal özellikler ve sağladığı fonksiyonellik açısından daha fazla tercih edilmektedir (Lin ve diğ., 2006).

#### **1.2.3.1. Suşun Kökeni**

Probiyotik bakterilerin insan odaklı kullanımından dolayı insan orijinli olması aranan özelliklerden birisidir. Bazı sağlığı destekleyici etkilerin suşa özgü olmasından dolayı insan orijinli bir bakterinin zaten insan sindirim sistemine uyum sağlaması, sağlık üzerinde daha kolay olumlu etki göstermesini sağlayabilir. Ancak suşun kökeninin yanı sıra yarattığı sağlık etkisi önem taşımaktadır (FAO, 2002).

#### **1.2.3.2. Suşun Güvenilir Olması**

Laktobasil ve bifidobakterilerin patojen olma potansiyellerinin çok düşük olduğu, bununla birlikte bazı enterokok suşlarının fırsatçı patojen olduğu bilinmektedir. Bu organizmaların probiyotik olarak kabul edilebilmesi Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration) tarafından 'genel olarak güvenli' anlamına gelen 'GRAS' olarak onaylanması ile sağlanmaktadır (Sanders, 1999).

### 1.2.3.3. Düşük pH Toleransı

Ağız yoluyla alınan probiyotik mikroorganizmalar, ağız boşluğundaki lizozim vb. enzimlere dayanıklılık gösterdiği takdirde bu bölümden geçerek, safra tuzu içeren mide ve üst bağırsak sistemine ilerler. Besinlerin mideye ilk girişi ve mideden salınımı yaklaşık olarak 3 saat sürmektedir. Bu durumda salgılanan mide asidi mideye alınan mikroorganizmalara karşı koruma mekanizması olarak işlev yapsa da, mide ortamına ulaşmış olan probiyotik mikroorganizmaların sindirim işlemine ve midedeki düşük pH'ya karşı direnç göstermeleri beklenmektedir (Hyronimus ve diğ., 2000; Dunne ve diğ., 2001; Sung ve diğ., 2009; Tambekar ve Bhutada, 2010).

Fermantasyon sırasında laktozun parçalanması ile oluşan son ürünlerden laktik asidin oluşması ya da sindirim işlemi sırasında mide ortamında bulunan hidroklorik asit mikroorganizmaların maruz kaldığı asit ortamlardır. Bu nedenle asit ortamlara uyum sağlama; mikroorganizmalar açısından süt ürünlerinde başlatıcı kültür olabilme, probiyotik özellikte olan mikroorganizmalar açısından da sindirim sistemine ulaşabilme özelliği bakımından önemlidir. (Jan ve diğ., 2000; Sanz, 2007). Bu karakteristik özellikler de *in vitro* ortamlarda denenerek probiyotik suşların seçimi için kullanılabilir. Midedeki yüksek asitlik ve bağırsaktaki yüksek safra konsantrasyonu suş seçimini etkileyen ilk konakçı faktörleridir (Hyronimus ve diğ., 2000).

Mikroorganizmaların düşük pH'lara direncini belirlemek için pH'sı 3,0 ve altındaki koşullarda ortamlar hazırlanarak denenecek olan kültürler inoküle edilerek inkübasyona bırakılır ve 0., 1., 2., 3., saatlerde canlılıkları incelenir (Yavuzdurmaz, 2007). Bu anlamda çoğunlukla insan ve hayvan normal mikroflorasını oluşturan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri probiyotik olarak çalışılmıştır (İñiguez Palomares ve diğ., 2007). *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri genel olarak düşük pH'ya dayanıklılık gösterebilirler de organizmalar arasında suşlara bağlı olarak farklılıklar belirlemekte ve laktobasiller pH 3,0'ın altındaki ortamlarda duyarlılık kazanmaktadırlar (Corcoran ve diğ., 2005; Lahtinen ve diğ., 2010).

Kimoto ve diğ. (1999) düşük pH ve safra toleranslarını araştırdıkları laktokokları pH'sı 2,5 olan ortamda 30 dakika süre ile bekletmişler ve sonrasında yaptıkları ekim ile *Lc. lactis* 527'nin hem düşük pH'ya hem de safra tuzlarına dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Charteries ve ark. (1998) tarafından yapılan bir çalışmada *Bf. bifidum*,

*Bf. animalis*, *Bf. infantis*, *Bf. breve* ve *Bf. adolescentis* gibi çoğu suşun yapay mide ortamında doğal bir dayanım gösteremediği belirtilmiştir (pH 2,0, 90 dk.). Takahashi ve diğ. (2004) yaptıkları bir çalışma sonucunda bu türlerin mide ortamında canlı kalabilme oranının % 1'den daha az olduğunu, ancak *Bf. longum*'un bir suşunun pH 3,0'da 2 saat inkübasyonu sonunda % 25 oranında canlı kalabildiğini belirtmişlerdir. pH 3,0-5,0 arasında 3 saat süre ile canlılığını koruyabilen *Bf. animalis* subsp. *lactis* dışında *Bf. longum*, *Bf. adolescentis* ve *Bf. pseudocatenulatum* hücrelerinin pH 3,0'da 1 saat inkübasyon süresi sonunda belirgin şekilde azaldığı, ancak *Bf. animalis* subsp. *lactis*'in de pH 2,0'da 1 saat sonrasında canlılığını kaybetmeye başladığı Matsumoto ve diğ. (2004)'nin çalışması sonucunda belirtilmiştir. *L. acidophilus* ve *Bf. bifidum*'un çeşitli suşlarının karakteristik özelliklerini belirlemek amacıyla Goderska ve Czarnecki (2007) tarafından yapılan çalışmalarda incelenen birçok özelliğin yanında bu suşların asit ortama toleransları incelenmiş ve bu amaçla pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ortamları hazırlanmıştır. Hazırlanan bu ortamlarda *Bf. bifidum*'un *L. acidophilus*'a göre daha dayanıklı olduğu, ancak bu belirgin farkın pH 5 ve 6'da gözlenemediği belirtilmiştir. pH 2 ve 3 ortamında 24 saatlik *L. acidophilus* kültürlerinin canlı kalabildikleri, tüm *Bf. bifidum* suşları arasında *Bf. bifidum* DSM 20215'in düşük pH'ya en duyarlı suş olduğu gözlenirken, *Bf. bifidum* suşları için ideal pH'nın 6 olduğu belirtilmiştir.

#### **1.2.3.4. Safra Tuzu Toleransı**

Mikroorganizmaların probiyotik olarak kabul edilmesinde kullanılan diğer bir kriter safra tuzlarına karşı gösterdikleri toleranstır (Lee ve Salminen, 1995). Safra asitleri karaciğer tarafından kolesterolden sentezlenir, safra kesesi tarafından da konjuge formda duodenuma iletilir. Bu asitler, kalın bağırsakta mikrobiyel aktivite sonucu dekonjugasyon, dehidroksilasyon, dehidrojenasyon ve deglukuronidasyon gibi kimyasal modifikasyona uğrar ve elde edilen konjuge ve dekonjuge formda olan safra tuzları antibakteriyel etki gösterir (Dunne ve diğ., 2001). Safra tuzları canlı hücreler için toksik olup, hücre zarı yapısını bozmaktadır. Bu nedenle probiyotik bakterilerin sindirim sisteminden geçişleri sırasında canlılıklarını koruyabilmeleri için safra tuzlarını tolere edebilmeleri gerekmektedir (Sanders ve diğ., 1999).



*L. paracasei* subsp. *paracasei* ve *L. rhamnosus*'un *L. acidophilus*, *L. gasseri* ve *L. reuteri*'ye göre safra tuzlarına daha dayanıklı olduğu belirtilmiştir (Xanthopoulos ve diğ., 2000). Dunne ve ark. (2001), test ettikleri *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşlarının domuz safrasına direnç gösteremezken, sığır safrasına karşı dayanıklı olduğunu ancak her iki türün de insan safra tuzu içeren ortamda rahatlıkla gelişebildiğini belirtmiştir. Başyığıt Kılıç ve Karahan (2010) tarafından izole edilen insan orijinli 107 adet laktik asit bakterisi 16S rRNA dizi analizi ile tanımlanmış, asidik pH ve safra tuzu direnci ile antibiyotik duyarlılıkları incelenmiştir. Elde edilen bulgular ile *L. plantarum* (AA1-2, AA17-73, AC18-88, AK4-11 ve AK7-28), *L. fermentum* (AB5-18, BB16-75 ve AK4-180), *E. faecium* (AB20-98 ve BK11-50) ve *E. durans* (AK4-14 ve BK9-40)'ın sağlığı destekleyici özellikleri sayesinde probiyotik bakteri olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir. Tambekar ve Bhutada (2010) keçi sütünden izole ettikleri 48 adet laktobasil suşundan güçlü antibakteriyel etki gösteren *L. plantarum* (G95a ve G96a) ile *L. rhamnosus* (G92, G99 ve G119b) suşlarının asit (pH 2,0) ve safra tuzu (% 2) toleransı gösterdiğini belirtmiştir. Floros ve diğ. (2012) tarafından Yunan peynirlerinden izole edilen 12 adet *L. paracasei* subsp. *paracasei* ve 7 adet *L. plantarum*'un düşük pH, safra tuzu ve pankreatine direnci incelenmiş, suşların % 0,3 safra tuzu ve pankreatin varlığında canlılıklarını korudukları belirtilmiştir. Argyri ve diğ. (2013) zeytinden izole ettikleri *Leuconostoc mesenteroides*, *Leu. pseudomesenteroides*, *L. plantarum*, *L. pentosus*, *L. paraplantarum* ve *L. paracasei* subsp. *paracasei*'den oluşan LAB'nin 4 saate kadar safra tuzlarına dirençli olduklarını belirtmiştir.

### 1.2.3.5. Bağırsak Epitel Yüzeyine Tutunma

Bağırsak iç dengesi, konakçının sindirim sistemine alınan moleküller ve bağırsak mikroflorasında görülen mikroorganizmaların etkileşimine bağlı olarak oluşmaktadır (Leser ve Mølbak, 2009; Heuvelin, ve diğ., 2010). Kurulan bu dengede bağırsak yüzeyine tutunan probiyotik mikroorganizmaların epitel yüzeylere tutunması ve koloni oluşturabilmesi, bağışıklık sisteminin aktive edilmesi ve patojenlere karşı antagonistik aktivitenin gözlenebilmesi için ön şart olarak görülmüştür (Simmering ve Blaut, 2001; Tuomola ve diğ., 2001). Epitel doku, vücudun iç ve dış yüzeyini örten,

araları çok sıkı olan epitelyum hücrelerinden oluşmuş özelleşmiş bir dokudur (Anonim b). Probiyotik mikroorganizmaların bu dokuya tutunma mekanizmalarını açıklayabilmek ve insanlarda karşılaşılan problemleri önleyebilmek için *in vitro* modeller oluşturulmuştur. Bu amaçla en çok Caco-2 ve HT-29 doku kültür hücreleri, bağırsak mukusu ile ileostom glikoproteinleri kullanılmıştır (Moussavi ve Adams, 2009).

Bağırsak epitelyum yapısı patojen bakterilere, antijen ve toksik bileşiklere karşı engel oluşturmakta, beslenme sonucu alınan antijenler, patojenler, kimyasallar ve radyasyon gibi doğal mikroflorayı veya epitelyum yüzeyleri rahatsız eden olumsuz durumlarda savunma mekanizması oluşturmaktadır (Walker ve Duffy, 1998). Probiyotik mikroorganizmalar bağırsakta koloni oluşturabildikleri takdirde patojenlerin kolonizasyonunu azaltmakta, bağışıklık sistemini uyararak zarar gören mukozanın iyileşmesine katkı sağlamaktadır. Diğer taraftan probiyotik bakterilerin koloni oluşturmasının gastrointestinal hastalıkların önlenmesinde de yararlı olduğu düşünülmektedir (Ouwehand ve diğ., 2001; Duary ve diğ., 2011).

Probiyotikler, mide asit ortamından ve safra tuzu, pankreatik sıvıların olduğu üst ince bağırsaktan canlı geçebildiği takdirde, alt ince bağırsak ve kalın bağırsakta yararlı etkiler meydana getirebilmektedir (Ljungh ve Wadström, 2005; Ohashi ve Ushida, 2009). Özellikle probiyotikler sindirim sistemindeki enterik enfeksiyonlar ve kronik inflamatuvar bozuklukların tedavi ve önlenmesinde kullanılmakla birlikte (Tambekar ve Bhutada, 2010), bağışıklık sistemini güçlendirerek, besin sindirimini ve çeşitli bileşiklerden yararlanmayı arttırmakta, antimutajenik, antikarsinojenik ve antibakteriyel özellikler göstermektedir (Holzapfel ve Schillinger, 2002).

Kolonizasyon işlemi bakterinin mukozal yüzeye tutunması, mukus jeli içerisine girmesi veya epitelyum hücrelere tutunması şeklinde olmaktadır. Tutunma spesifik olmayan, biyokimyasal faktörlere bağlı olabildiği gibi, bakteri yüzeylerindeki tutunma molekülleri ve epitelyum hücrelerdeki reseptör moleküller tarafından da sağlanmaktadır (Bernet ve diğ., 1993). Bu nedenle mikroorganizmaların probiyotik olarak seçilmelerinin temel kriterinden biri epitelyum hücrelere ve mukozal yüzeylere tutunabilmesidir (FAO/WHO, 2001).

Bernet ve diğ. (1993) tarafından insan enterositlerine (Caco-2 hücrelerine) tutunabilme özellikleri belirlenmiş suşların ayrıca mukus üreten hücrelere (HT-29-

MTX) bağlanma özellikleri incelenmiştir. *Bf. breve* 4, *Bf. infantis* 1 ve 3 insan izolatu için kalsiyuma bağımlı olmayan bir bağlanma şekli gözlenmiştir. Caco-2 hücrelerine bağlanma proteinimsi yapılarla sağlanmıştır. Tutunma özelliği gösteren insan bifidobakteri suşlarının ishal yapan bakterilere karşı inhibe edici etkisi tespit edilmiştir. Diğer taraftan bağlanma özelliği gösteren bifidobakteri suşlarının enteropatojenlerin bağlanmasını da önemli derecede engellediği tespit edilmiştir.

İnsan sindirim sistemi orijinli iki *L. plantarum* 299 ve 299v ile 17 adet *L. plantarum* suşunun insan kolik hücreleri HT-29'a tutunma özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, dokuz suşun metil- $\alpha$ -D-mannozun inhibisyonu ile tutunma sağladığı belirlenmiştir (Adlerberth, ve diğ., 1996). *Str. salivarius* subsp. *salivarius* UCC118 ile 80 sağlıklı gönüllü üzerinde yapılan bir araştırmada, mikroorganizmanın vücuda alınabilmesi ve bağırsak florasını etkileyerek koloni oluşturabilmesi için yoğurdun önemli bir etkisi olduğu belirtilmiştir (Dunne ve diğ., 2001).

Matijašić ve diğ. (2003) insan sindirim sisteminde canlılığını koruyabilen iki izolat olan *L. gasseri* LF221, *L. gasseri* K7'nin ve kontrol olarak kullanılan *L. rhamnosus* GG'nin Caco-2 hücrelerine tutunabilme özelliklerini pH 4,5 ve 7'de karşılaştırmıştır. Araştırmacılar asidik pH'nın tutunmayı etkilediğini belirtirken, her iki pH'da K7'nin GG suşuna kıyasla tutunma yeteneğinin daha az olduğunu, pH 4,5'de ise LF221'in GG suşuna oranla daha iyi tutunma gösterdiğini bildirmişlerdir. En düşük laktobasil konsantrasyonunda LF221, en yüksek laktobasil konsantrasyonunda ise GG suşu en iyi bağlanma oranını göstermiştir. Lewandowska ve diğ. (2005)'nin yaptığı başka bir çalışmada ise *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşlarının Caco-2, HT-29 ve Int 407 hücrelerine tutunma özellikleri incelenmiş, *L. rhamnosus* ve *Bf. bifidum*'un Caco-2 hücrelerine en iyi tutunmayı gösterdiği belirlenmiştir. *Bf. bifidum* NCC189 ve S17 Caco-2 hücrelerine güçlü bağlanma özelliği gösterirken, *Bf. infantis longum* E18'in zayıf bağlanma özelliği gösterdiği ayrıca tutunmanın pH'dan etkilendiği belirlenmiştir. Suşa özgü tutunmanın yanında asidik pH tutunma özelliğini farklı şekilde etkilemektedir. *Bf. lactis* NCC362 orta derecede bir bağlanmaya sahip olup, pH değişiminden etkilenmezken, *Bf. longum* NCC2705'in gösterdiği orta dereceli bağlanma pH 4,5'te artış göstermiştir. *Bf. bifidum* S17 yüksek derecede bağlanma özelliğine sahip iken, bu özellik pH 4,5'te düşüş göstermiştir. *Bf. longum infantis* E18 düşük derecede bağlanma özelliği gösterirken, bağlanma özelliği pH'dan etkilenmemiştir (Riedel ve

diğ., 2006). Verdenelli ve diğ. (2009), yaptıkları çalışmada yaşlı İtalyanların dışkılarından izole ettikleri 11 laktobasil suşunu tanımlamış, probiyotik özelliklerini belirleyebilmek için izolatların mide asidi ile safra tuzlarına direnci, HT-29 hücrelerine tutunma, antimikrobiyel özellikleri, antibiyotik duyarlılıkları ve plazmit profilini incelemiştir. Ayrıca 3 ay süre ile insan beslenmesinde kullanılan bu izolatların bağırsaktan geçişi sırasında canlılıkları araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre *L. rhamnosus* IMC 501 ve *L. paracasei* IMC 502'nin fonksiyonel gıdalarda probiyotik olarak kullanılabilmesi için en uygun özellikleri gösterdiği bildirilmiştir. Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla bu iki suşun birlikte kullanımının sağlığı destekleyici etkisi olduğu belirtilmiştir.

#### **1.2.3.6. Antimikrobiyel Etki**

Probiyotik bakterilerin temel yararlarından birisi de ince ve kalın bağırsaktaki patojen bakterilerin inhibe edilmesidir (Kos ve diğ., 2008). Diğer taraftan probiyotik bakteriler gıdalarda gösterdikleri antimikrobiyel özellikler sayesinde fermente ürünlerin kalitesi üzerine de olumlu etkiler yapmaktadır. Gıdalarda probiyotiklerle bozucu ve patojen bakterilerin kontrolü, raf ömrünün uzatılması ve duyuşsal özelliklerinin iyileştirilmesi ile ürünün kalitesi üzerine etki sağlanmaktadır (Wei ve diğ., 2006; Siripatrawan ve Harte, 2007; Ammor ve Mayo, 2007; Akpınar ve Başıyğit Kılıç, 2012). Kos ve diğ. (2008) *L. monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, ve *Acinetobacter calcoaceticus*'a karşı *L. acidophilus* M92, *L. plantarum* L4 ve *E. faecium* L3 probiyotik suşlarının kültür ve süpernatantlarını kullanarak antagonistik aktivitesini incelemiş, tüm probiyotik suşların *Salmonella* üzerinde etkili olduğu, *L. acidophilus* M92'nin ise antilisteriyal aktiviteye sahip olduğu *in vitro* rekabet testi ile belirlenmiştir.

Bağırsak patojenlerinin inhibe edilmesinde görev alan antimikrobiyel bileşiklerin üretimi, bakterilerin probiyotik olarak sınıflandırılmasında kullanılan diğer bir kriterdir (Hutt ve diğ., 2006). Seçilmiş probiyotik bakteriler; antibiyotik benzeri maddelerin üretimi, bakteriyosin ile asidofilin ve reuterin gibi bakteriyosin benzeri maddelerin üretimi, laktik asit, asetik asit, fenillaktik asit gibi organik asitlerle pH'nın düşürülmesi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve kısa zincirli yağ asitlerinin üretimi, redoks potansiyelinin

düşürülmesi, yararlı maddelerin tüketimi gibi etkilerle patojenik mikroorganizmaların inhibisyonunu sağlamaktadır (Holzapfel ve diğ., 1995; Ouwehand, 1998; Sjögren ve diğ., 2003; Lowe ve Arendt, 2004; Lind ve diğ., 2007; Erkmen ve Bozoğlu, 2008; Tharmaraj ve Shah, 2009; Seçkin ve diğ., 2010).

İnsan mikroflorasından izole edilen *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşlarının *Listeria*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *E. coli*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*'a karşı antimikrobiyel etkisinin incelendiği bir çalışmada *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* UCC118'in çoğu bakteriyi inhibe ettiği ancak laktobasil (*L. fermentum* dışında) ve bifidobakterileri inhibe edemediği belirtilmektedir (Thornton, 1996). Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar *L. acidophilus* LA5 ve *Bf. lactis* BB12 içeren yoğurtlarda *Helicobacter pylori* gelişiminin önlediği belirtilirken (Wang ve diğ., 2004), *E. coli*, *S. enteritidis*, üç farklı *Listeria* türü ve *Bf. cereus*'a karşı *Bf. breve* C11'in en yüksek, *Bf. infantis*'in en az antagonistik aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Yazid ve diğ., 1999). Vizoso Pinto ve diğ. (2006) tarafından yapılan çalışmada, LAB'nin gıda kaynaklı patojenlerden *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*'e antagonistik etki gösterdiği, bu özelliği ile de koruyucu olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada, *L. plantarum* suşlarının pH'sı 2,0, 2,5, 3,0, 3,5 olan yapay mide suyu ortamında mide asidi ve % 0,4 fenole direnci ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi, Caco-2 hücre hattına tutunma ve antimikrobiyel etkisi incelenmiştir. Araştırmacılar tarafından tüm *L. plantarum* suşlarının % 0,4 fenol direncine sahip olduğu, pH'sı 2,0 olan yapay mide suyu ortamında bile canlılıklarında önemli bir değişim olmadığı belirtilmiştir. Tüm suşların probiyotik özellik gösterdiği fakat *L. plantarum* AB6-25, AB7-35, AA13-59, AB16-65, BC18-81 ve AK4-11'in mide şartlarında canlı kalabilmesi, güçlü fenol direnci ve Caco-2 hücre hattına tutunma özelliği ile insan kullanımı açısından en iyi probiyotik suşlar olduğu belirtilmiştir (Başyigit Kılıç ve diğ., 2011). Delavenne ve diğ. (2013) tarafından yapılan çalışmada inek ve keçi sütlerinden izole edilen *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. zae* ve *L. harbinensis* suşlarının *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus*, *Penicillium brevicompactum*, *Rhodotorula mucilaginosa* ve *Yarrowia lipolytica* üzerinde değişen oranlarda antifungal etki gösterdiği belirtilmiştir.

#### 1.2.4. Probiyotik Mikroorganizmaların Sağlık Üzerine Etkileri

İnsan ve hayvan sağlığına katkıda bulunan probiyotikler geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir. Probiyotiklerin insan ve hayvan gıdalarında herhangi bir yan etki göstermeden bağırsak mikroflorasını destekleyici özelliği sayesinde kullanıldığı gözlenmektedir (Holzapfel ve Wood, 1998)

Son yıllarda probiyotik ilaveli ürünler üzerine yapılan çalışmalarda temel olarak bu ürünlerin bağırsak florasını dengelemesi, sindirim sisteminin çalışma şeklini düzenlemesi, bağışıklık sistemini desteklemesi gibi etkilere sahip olması beklenmektedir (Saad ve diğ., 2013). Diğer taraftan bağırsak sağlığını korumak için probiyotik ve prebiyotik içeren fonksiyonel ürünlere olan ilgi artmaktadır (Marteau, 2001). Probiyotik ürünlerin sağlık üzerine olumlu etki meydana getirebilmeleri için son kullanma tarihine kadar ml veya g'nda  $10^6$  KOB düzeyinde probiyotik bakteri konsantrasyonuna sahip olması gerekirken, terapötik bir etkinin oluşabilmesi için de günlük alınması gerekli minimum dozun  $10^8$ - $10^9$  olduğu belirtilmektedir (Shah 2000). Ancak fermente süt ürünlerinde ürünün son asitliği, besin içeriği, çözünmüş oksijen, paketin oksijen geçirgenliği gibi faktörler probiyotik bakterilerin canlılığını etkilemektedir (Tamime ve diğ., 2005).

Özellikle sindirim sistemindeki enterik enfeksiyonlar ve kronik inflamatuvar bozuklukların tedavi ve önlenmesinde kullanılan (Tambekar ve Bhutada, 2010) probiyotiklerin, yapılan çalışmalarla çeşitli gastrointestinal hastalıkları önlediği ve tedavi ettiği (Karahan ve Çakmakçı, 1996; Karahan, 2005; Songür, 2005; Başyigit Kılıç ve diğ., 2010; Şenol ve diğ., 2011a; 2011b), patojen bakterilerin toksin üretimini veya metabolizmasını değiştirmek ya da canlı hücrelerin sayısını azaltmak gibi etkilere sahip olduğu (Chiang ve Pan, 2012), probiyotik bakterilerin canlı hücrelerinin bağırsaklarda bulunmaları halinde, bağışıklık sistemini uyardıkları ve kuvvetlendirdikleri belirtilmiştir (Klaenhammer, 2000; Can, 2003). Sindirim sisteminde bulunan probiyotik bakterilerin patojenler üzerinde bakterisidal veya bakteriyostatik etki yaptığı,  $\beta$ -glikozidaz, nitroredüktaz ve üreaz gibi mutajen ve kanserojen etkiye sahip enzimlerin miktarını azalttığı (Roberfroid, 2000; Goldin, 2011), bağışıklık sistemini güçlendirdiği, besin sindirimini ve çeşitli bileşiklerden yararlanmayı arttırdığı (Holzapfel ve Schillinger, 2002; Gaudana ve diğ., 2010) belirtilmektedir. Ayrıca bu bakterilerin antibiyotik

tedavisinin yan etkilerini önleme, serum kolesterol düzeyinin düşürülmesi, laktoz hidrolizi ve vitamin üretimi gibi pek çok olumlu özelliğe sahip olduğu da bilinmektedir (Havenaar ve Huis in't Veld, 1992; Sanders, 1999; Rolfe, 2000; Aloğlu, 2005; Goldin, 2011; Karahan ve diğ., 2012).

#### **1.2.4.1. Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi**

Vücuda giren bir immunojen, bağışıklık sisteminin başlıca elemanları olan makrofajlar ve lenfositler ile ya doğrudan ya da salgıladıkları maddelerle etkisiz hale getirilir. Organizma dış etkilere karşı spesifik ve spesifik olmayan savunma mekanizmasına sahiptir. Doğumdan önce steril olan bağırsak sisteminin beslenme ve çevresel faktörlerden dolayı bakterilere maruz kalması sonucunda kolonizasyon süreci başlar (Tannock ve diğ., 1990). Bu durum da doğumdan sonra bağışıklık sisteminin gelişimi için temel bir süreçtir (Edwards ve Parret, 2002). Doğum kanalı ve çevre sayesinde mikroorganizmalarla tanışan yeni doğanlarda baskın olan *E. coli* ve *Streptococcus* anne sütü ile beslenme sonucunda *Bifidobacterium*'un hızla artışına bağlı olarak giderek azalmaktadır. Anne sütü yanında ek besinlerle beslenmeye başlayan bebeklerde bu denge değişir ve tekrar *E. coli*, streptokok ve klostridyum miktarlarında artış gözlenir. Konakçının savunma mekanizması ve bağırsak fizyolojisi bağırsak sistemindeki mikroflora kompozisyonu ve dağılımını etkilemektedir (Holzapfel ve diğ., 1998). Bağırsak mikroflorası; konakçının sağlığı üzerinde etkili iken, enerji ve besin üretimi yanında istenmeyen mikroorganizmalara karşı da koruma sağlamaktadır. Sahip olunan bağırsak florası yaşlanma, stres, etnik çevre gibi fizyolojik koşullar, beslenme şekli ve ilaç tüketimine bağlı olarak değişmekte, zararlı mikroorganizma sayısı artış gösterebilmektedir (Woodmansey, 2007). Özellikle insan vücudundaki toplam hücrelerin % 95'ini oluşturan bağırsak florası patojenlere karşı bağışıklık sistemini harekete geçirebilen bir mekanizmadır (Dunne ve diğ.,2001).

Probiyotik bakteriler, organizmanın geliştirmiş olduğu savunma mekanizmasının güçlenmesine katkı sağlarken, makrofajları aktive ederek bağışıklık sistemini uyarır (Kılıç, 2008). Yapılan klinik çalışmalar probiyotik bakterilerin viral enfeksiyonlar, alerjik hastalıklar ve kolit ile ilgili olumlu sonuçlar doğurduğunu göstermiştir. Can (2003) probiyotik kombinasyonu ve *L. GG*'nin alerji bağışıklık sistemi üzerine etkisini

hayvan deneme modeli üzerinde incelemiştir. Denemede karışık ve referans probiyotik ile beslenen grupların IgE düzeylerinin sadece skim milk ile beslenen gruptan istatistik olarak önemli düzeyde daha düşük olduğu belirtilmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada ise *Bf. bifidum*, *L. acidophilus* ve *L. paracasei* içeren probiyotik peynir tüketiminin bağırsak mukozasındaki IgA üreten hücre sayısını arttırdığı belirlenmiştir (Medici ve diğ., 2004). Abrahamsson ve diğ. (2007) tarafından yapılan çalışmada annelere hamileliğin 36. haftasından doğuma kadar olan dönemde günlük olarak *L. reuteri* ATCC 55730 verilmiş, bebeklerde de 12. aya kadar probiyotik tüketimine devam edilmiştir. Probiyotik tüketen bebeklerde 2. yıla kadar daha düşük oranda egzama gözlemlendiği belirtilmiştir.

#### **1.2.4.2. Antikarsinojen Etkisi**

Bazı kanser tipleri beslenme ile doğrudan ilişkili olup, tüketilen ürünlerdeki nitro aromatikler, azotlu bileşikler ve nitrat gibi bileşenler sindirim sistemi mikroflorasının sahip olduğu enzimler tarafından metabolize edilerek genotoksik ve karsinojenik bileşiklere dönüşmektedir (Burns ve Rowland, 2000; Karagül Yüceer, Avşar, 2010). Beslenme kaynaklı bu olumsuzlukları önlemek için alınabilecek en önemli tedbir DNA bozulmalarını önleyebilecek koruma faktörlerinin vücuda alınmasıdır (Walker ve Duffy, 1998). Bağırsak sistemi özellikle mikrobiyel kaynaklı kanser tiplerinin görüldüğü bir ortam olup, bakteriyel kaynaklı karsinojenik bileşiklerin üretildiği ve tümör oluşumunun en fazla görüldüğü yerlerden birisidir (Rowland, 1995; Rafter ve diğ., 2007). LAB ve bifidobakterler karsinojen oluşumuna sebep olan enzimlerin miktarlarını azaltmaktadır (Aso ve Akazan, 1992; Marteau ve diğ., 1993; Hosoda ve diğ., 1996; Rafter ve diğ., 2007). Probiyotik bakterilerin antikarsinojen etkisinin prokarsinojen kaynakların azaltılması, bağırsak mikroflorasının güçlendirilmesi, toksin üretiminin geciktirilmesi gibi etkilerle sağlanabileceği belirtilmiştir (Singh ve diğ. 1997). Diğer taraftan kolon bakterilerinin detoksifikasyon, lignin ve fitoöstrojen aktivasyonu, karsinojen ve antimutajenleri bağlayıcı etkisi ile koruyucu etki sağladığı bilinmektedir (Liong, 2007). Salminen ve diğ. (1998) tarafından sindirim sistemi mikroflorasının düzenlenmesinin, prokarsinojenlerin karsinojenlere dönüşümünün azaltılması gibi metabolik aktivitelerin değiştirilmesinin, toksin absorpsiyonunun azaltılması veya



önlenmesinin, bağırsak sistemi hücre bölünmesinde folat sağlanmasının laktik asit bakteri tüketimiyle ilişkili olduğu belirtilmiştir (Rafter ve diğ., 2007; Karagül Yüceer, Avşar, 2010).

Son yıllarda azalış göstermesine rağmen kolorektal kanser; erkeklerde akciğer, kadınlarda meme kanserinden sonra ikinci sırayı almış bir kanser tipidir. Özellikle beslenme bu kanser tipi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Yapılan çalışmalar laktik asit üreten suşlar ve prebiyotiklerin rat kolonunda karsinojen oluşumunu, tümör oluşumu öncesi gözlenen lezyonları ve kimyasal karsinojenlerden oluşan tümörleri azalttığı gözlenmiştir (Goldin ve diğ., 1996; McIntosh ve diğ., 1999; Capurso ve diğ., 2006; Rafter ve diğ., 2007).

Çeşitli çalışmalarda karsinojen bileşiklerin alımından önce ve sonra probiyotik tüketiminin DNA'da oluşabilecek zararlı etkileri azalttığı bildirilirken (Horie ve diğ., 2003), çoğu laktobasil ve bifidobakteri suşunun rat kolon mukoza DNA'sına zarar veren bir karsinojen olan 1,2 dimetilhidrazin miktarını azaltıcı etki oluşturduğu, günlük 300 g probiyotik içeren yoğurt tüketiminin genotoksositeyi azalttığı bildirilmiştir (Oberreuther Moschner ve diğ., 2004). El-Nezami ve diğ. (2006) tarafından yürütülen ve Güney Çin'de sağlıklı erkek bireylerle yapılan çalışmada *L. rhamnosus* LC705 ve *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* suşlarının aflatoksin B1 emilimi ve üriner sistemle vücuttan atılması üzerine etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışmada 5 hafta süre ile günde 2 defa bireyler probiyotik kombinasyonu ve placebo (boş kapsül) ile beslenmiştir. Araştırma sonunda probiyotik kombinasyon ile beslenen grupta üriner AFB-N<sup>7</sup>-guanin miktarının önemli oranda düştüğü ve probiyotik kombinasyon ile karaciğer kanser riskinin azaltılabileceği bildirilmiştir. Rafter ve diğ. (2007) tarafından *L. rhamnosus* GG, *Bf. lactis* Bb12 probiyotik kültürleri ile hazırlanan simbiyotik ortamın 12 haftalık tüketim süresince kolorektal kanser riskine etkisi kolon kanseri hastaları üzerinde incelenmiştir. Deneme süreci sonunda hastaların dışkı örneklerinde laktobasil ve bifidobakter sayısının arttığı, *Clostridium perfringens* sayısının önemli derecede azaldığı, polipektomi uygulanan hastalarda genotoksin miktarının azaldığı, kanser hastalarında ise interferon gama sayısının arttığı tespit edilmiştir. Bu sayede simbiyotik tüketimi ile kolorektal kanser riskinin azaltılabileceği bildirilmiştir.

### 1.2.4.3. Diyare

Diyare özellikle gelişmekte olan ülkelerde ölümlere sebep olabilen tüm dünya için önem arz eden bir hastalıktır. Bağırsak sistemi insan vücudunun en aktif organlarından biri olarak kabul edilmekte, beslenmenin yanı sıra endokrin sistem ve metabolik aktivitelerle konakçının sağlığı üzerinde önemli bir rol üstlenmektedir. Bağırsak sistemi solunum sisteminden sonra vücutta ikinci en büyük alana sahip olmakla birlikte, bu kanaldan bireyin normal yaşam süresi boyunca 60 tona yakın yiyecek geçmektedir. Bu durum göz önüne alındığında inflamatuvar hastalıklarla kanser riskinin oluşması tesadüf olarak değerlendirilmemelidir. İnsan sindirim sisteminin sahip olduğu farklı türdeki mikroorganizmalar bilinmekle birlikte, özellikle mide ve bağırsak mikroflorasının insan sağlığı üzerinde etkili olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Ziemer ve Gibson, 1998; Andersson ve diğ., 2001; Saad ve diğ., 2013). Özellikle konakçının biyokimyasal yapısı üzerinde etkili olan bağırsak florası; bağırsak sisteminin enzimatik aktivitesinde, kısa zincirli yağ asitlerinin üretiminde, bağırsak sisteminin oksidasyon redüksiyon potansiyelinde, konakçı fizyolojisi, immünolojisi ve konakçı tarafından sentezlenen moleküllerin modifikasyonunda etkili olmaktadır (Tannock, 1995). Bağırsak sistemi çeşitli salgılarıyla korunmasına rağmen, salgı fonksiyonu yabancı kimyasallara karşı duyarlıdır (Bengmark, 1998).

Diyareye akut inflamatuvar reaksiyonlar ve *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Clostridium* ve *Escherichia* gibi farklı cins mikroorganizmalar sebep olmaktadır (Macfarlane ve Gibson, 1997). Pek çok farklı sebebi ve çeşidi bulunmakla birlikte, yapılan ilk çalışmalar viral veya bakteriyel diyarenin tedavisinde probiyotik bakterilerin olumlu etkilerinin olduğu yönünde bilgi vermektedir (Saad ve diğ., 2013). Yapılan çalışmalar *L. rhamnosus* GG, *L. reuteri* DSM 12246 ile *Saccharomyces boulardii*'nin rotavirüs ve antibiyotik kaynaklı diyarenin tedavisinde önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir (Rosenfeldt ve diğ., 2002; Kotowska ve diğ., 2005; Basu ve diğ., 2008).

Bağırsaklık sistemindeki etkilerinden dolayı probiyotikler diyareyi engelleyici ya da tedavi edici etkiye sahiptirler. Diğer taraftan patojenik bakteri veya virüslerle epitel hücrelere bağlanma bölgeleri için rekabete girerek enfeksiyonlara karşı koruma sağlarlar (Alvarez Olmos ve Oberhelman, 2001).

Agarwal ve Bhasin (2002), *L. casei* DN-114001 suşunun çocuklarda diyareyi % 40 azalttığını belirtirken, ağız yoluyla alınan probiyotiklerin rotavirüs kaynaklı diyareyi önlediği bildirilmiştir (Saavedra, 2000; Szajewska ve Mrukowicz, 2001; Huang ve diğ., 2002). Günlük 1,5 g probiyotik özellik gösteren *E. coli* Nissle 1917 (ECN) tüketiminin bağırsak antiinflamatuvarı olarak görev yaptığı, bir yıldan daha uzun bir süre kullanımının ise ülseratif koliti engelleyici ve tedavi edici etkisi olduğu belirtilmiştir (Kruis ve diğ., 2004; Sartor ve diğ., 2004). Bibiloni ve diğ. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada probiyotik karışımından oluşan bir ürün olan VSL#3'ün denendiği geleneksel tedavi yöntemi ile 3-6 haftalık süreçte hastaların % 77'sinin kolit şikayetinde azalma olduğu belirlenmiştir. *L. rhamnosus* GG'nin ülseratif kolit üzerine etkili olduğu bildirilirken (Zocco ve diğ., 2006), *L. reuteri* ATCC 55730'un çocuklarda kolit belirtilerini azalttığı belirtilmiştir (Savino ve diğ., 2007). Akut diyare görülen Hintli çocuklar üzerinde yapılan bir çalışmada 7 günlük tedavi sürecinde  $10^{10}$  ve  $10^{12}$  KOB düzeyinde *L. rhamnosus* GG alan çocuklarda hastalık süresinin kısaldığı bildirilmiştir (Basu ve diğ., 2008). *L. casei* DN-114 001'in kommensal *E. coli* ATCC 35345 üzerine etkisinin incelendiği başka bir çalışmada ise *L. casei*'nin *E. coli*'nin sebep olduğu iltihabı azalttığı belirlenmiştir (Llopis ve diğ., 2009). Longdet ve diğ. (2011) klinik olarak enfekte edilmiş albino ratlarda *Shigella dysenteriae*'nin sebep olduğu şigelloza karşı anne sütünden izole edilmiş *L. casei*'nin probiyotik etkisini denemişlerdir. Araştırma ile kontrol grubu ratların şigellozdan etkilendikleri belirlenirken, *L. casei* verilen grupta karaciğerde herhangi bir etkiye rastlanmamış ve şigellozun da önlenmediği tespit edilmiştir.

#### **1.2.4.4. Antikolesterol Etkisi**

Kolesterol, karaciğer tarafından sentezlenen ve gıdalar tarafından emilen esansiyel bir hücre membranı bileşenidir. Kolesterol bazı hormon ve safra asitlerinin üretimi için gereklidir. Beslenmede doymuş yağ alımı ile serum kolesterol seviyesi yüksek oranda ilişkili olup, özellikle düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) miktarının yüksek olması kalp ve damar hastalıklarına neden olmaktadır (Liong ve Shah, 2006). Kalp ve damar hastalıklarının dünya çapında yaklaşık 23,6 milyon kişiyi etkileyebileceği düşüncesiyle, 2030 yılında önde gelen hastalıklar arasında olacağı

tahmin edilmektedir (WHO, 2011). Probiyotik bakteriler safra asidini dekonjuge ederek lipidleri absorbe etmesini önler ve serum kolesterol seviyesinin düşmesini sağlarlar. Yapılan çoğu *in vitro* çalışmada probiyotik ve prebiyotiklerin toplam serum kolesterol miktarının, LDL kolesterol ve HDL kolesterol miktarının azaltılmasında önemli bir yere sahip olduğu bildirilmiştir (Ooi ve Liong, 2010). Probiyotiklerin kolesterolü asimile etmesi, hücre duvarına kolesterolün bağlanması, kolesterolün probiyotiklerin gelişmesi sırasında hücre zarıyla birleşmesi ve fermantasyon sırasında kısa zincirli yağ asitleri oluşturması kolesterolün önlenmesinde probiyotiklerin gösterdiği mekanizmalardır (Pereira ve Gibson, 2002; Liong ve Shah, 2005; de Preter ve diğ., 2007; Lye ve diğ., 2010).

Hindistan'da yapılan bir çalışmada, *L. acidophilus* suşu ile fermente edilen manda sütünün bir ay tüketimi ile kolesterol seviyesini % 12-20 oranında düşüğü belirtilmiştir (Khedkar ve diğ., 1993). Günlük 200 ml *E. faecium* içeren yoğurt tüketiminin kolesterol seviyesini azalttığı tespit edilirken (Agerbaek ve diğ., 1995), Liong ve Shah (2005) tarafından incelenen laktobasil suşalarının 12,03-32,30 µg/ml arasında değişen oranlarda kolesterolü asimile edebildikleri belirtilmiştir. Abd El-Gawad ve diğ. (2005) tarafından yürütülen başka bir çalışmada ise 35 gün boyunca günlük 50 g *Bf. longum* Bb-46 içeren bufalo sütü yoğurtları ile beslenen ratların toplam kolesterol seviyesinin % 50,3, LDL-kolesterol seviyesinin % 56,3, trigliserit seviyesinin % 51,2 azaldığı belirlenmiştir.

Ziarno ve diğ. (2007) tarafından ticari başlatıcı kültürlerin kolesterolü asimile etme özelliğinin incelendiği çalışmada, *L. acidophilus* monokültürlerinin % 49-55 oranında kolesterolü asimile ettiği bildirilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada hiperkolesterolemik fareler üzerinde *L. plantarum* PHO4'ün probiyotik özelliği Nguyen ve diğ. (2007) tarafından incelenmiştir. Araştırma sonunda 2 hafta boyunca günde 10<sup>7</sup> KOB düzeyinde probiyotik ile beslenen farelerde serum kolesterol seviyesinin probiyotik almayan kontrol grubuna kıyasla % 7-10 oranında azaldığı bildirilmiştir. Larkin ve diğ. (2009) tarafından soya ilaveli probiyotik yoğurtların kolesterol seviyesini düşürdüğü belirtilirken, Pan ve diğ. (2011) tarafından da kıımızdan izole edilen *L. fermentum* SM-7'nin kolesterol seviyesini % 66,8 oranında düşürdüğü bildirilmiştir.

#### 1.2.4.5. Laktoz Hidrolizi

Sütteki temel karbonhidrat olan laktozun hidrolizi dünya çapında bir problem olup, % 50'den fazla yetişkinin sorunu haline gelmiştir. Laktoz intoleransı olan kişiler laktozun sindirilmesini sağlayan  $\beta$ -galaktozidaz enzimine düşük seviyede sahiptir ya da genetik problemlerden dolayı bu enzim bireyin bağırsak sisteminde hiç salgılanmamaktadır. Sindirilemeyen laktoz kalın bağırsakta kalınbağırsak bakterileri tarafından fermente edilerek, çeşitli bileşiklerin oluşmasına sebep olur. Oluşan bu bileşikler bağırsaktan sıvı emilimini engelleyerek diyare, şişkinlik, karın ağrısı ve gaz oluşumuna sebep olurlar (Levri ve diğ., 2005).

Fermente süt ürünleri tüketiminin laktoz intoleransı önlediği yapılan çalışmalarla belirtilmektedir (Chryssanthopoulos ve Maridaki 2010). Fermente süt ürünlerinde laktozun zaten parçalanmış olması veya laktozun sindirilmesini sağlayan  $\beta$ -galaktozidazın probiyotik bakteriler tarafından salgılanması laktoz intoleransına karşı yararlı etkiler sağlamaktadır. Diğer taraftan mineral içeriği süte benzeyen yoğurt özellikle laktoz intoleransı olan kişiler için önemli bir kalsiyum kaynağıdır (McKinley, 2005). Yapılan çoğu çalışmada probiyotik LAB tarafından laktozun yaklaşık % 20-40'ının parçalanabildiği bildirilmiştir (He ve diğ., 2008).

Yapılan çalışmalar bağırsakta düşük  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesine sahip bireylerde laktoz emiliminin süte oranla *L. acidophilus* içeren sütlerde ve yoğurtta daha fazla olduğunu göstermektedir (Lin ve diğ., 1991; Mustapha ve diğ., 1997; Montes ve diğ., 1995). Yoğurtta bulunan normal seviyedeki ( $\geq 10^8$  KOB/g) yoğurt kültürlerinin (*Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) laktoz sindirimini arttırdığını göstermektedir. Bu etkinin ise suşa özgüllükten çok hücre yoğunluğuna bağlı olduğu belirtilmiştir (Lin ve diğ., 1991). Farklı LAB ve bifidobakteri suşları içeren fermente süt ürünleri ile beslenen gönüllülerde laktoz intolerans nedeniyle görülen sendromların önlenemediği belirtilirken (Jiang ve diğ., 1996), çoklu probiyotik ürünü olan VSL3'ün H<sub>2</sub> oluşumunu engellediği bildirilmiştir (Yesovitch ve diğ., 2004). *Bf. longum* içeren kapsül ile *Bf. animalis*, *L. bulgaricus* ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* içeren yoğurtların laktoz intoleransı bulunan 11 kişi üzerindeki etkisi incelenmiş, 14 günlük deneme süreci sonunda kişilerin laktoz intoleransa bağlı şikayetlerinde azalma tespit edilmiştir (Zhong ve diğ., 2006). He ve diğ. (2008)

tarafından laktoz intoleransı olan kişiler üzerinde yapılan çalışmada bireyler 2 hafta boyunca *Bf. longum* kapsülü ve *Bf. animalis* içeren yoğurtları tüketmişlerdir. Deneme sonunda dışkıda belirlenen  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesinin arttığı, ancak kapsül ve yoğurt tüketen bireyler arasında önemli bir fark olmadığı belirtilmiştir.

#### 1.2.4.6. Vitamin Üretimi

Vitaminler genetik yapıları ve antioksidan özellikleri ile farklılık gösteren moleküler fonksiyonları sayesinde insan sağlığı üzerinde önemli etkiler yaratan bileşiklerdir. İnsanlar tarafından sentezlenemedikleri için çoğu vitamin beslenme ile alınırken, bazı bağırsak bakterileri belli vitaminleri üretebilmekte ve bu durum probiyotik bakterilerle sindirim sistemi mikroflorasının fonksiyonel bir özelliği olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda LAB'nin çoğunun folat, kobalamin, riboflavin, tiamin, piridoksin, naftokinin gibi vitaminleri üretebildikleri belirtilmiştir (O'Connor ve diğ., 2008). Burgess ve diğ. (2004) *Lc. lactis* subsp. *cremoris* NZ9000'in riboflavin üretimini incelemiş, çalışmada riboflavin üretimini sağlayan genin karakterizasyonu sağlanarak, vitamin içeren fermente ürünlerin üretiminde kullanılabilceği bildirilmiştir. Pompei ve diğ. (2007) tarafından folat üretimleri incelenen 76 bifidobakteri suşundan, 17 tanesinin folat ürettiği, 6 suşun folat içermeyen besiyerinde geliştikleri ve 41-82 ng/ml arasında değişen oranlarda folat ürettikleri bildirilmiştir. *Bf. adolescentis* ve *Bf. pseudocatenulatum* tüketen 23 sağlıklı gönüllü üzerinde yapılan çalışmada dışkıda belirlenen folat miktarının arttığı belirlenmiştir (Strozzi ve Mogna, 2008). Folat üretimi gözlenen bifidobakterle beslenen ratlarda plazmada folat miktarının arttığı bildirilirken, insanlarda yapılan denemelerde de aynı şekilde dışkıda folat miktarının arttığı belirlenmiştir (Rossi ve diğ., 2011).

### 1.3. Fonksiyonel Gıdalar

Yaşam standartlarının değişmesi, tüketici bilincinin artması ve günümüzün hızlı yaşam koşulları sonucunda bireylerin doğal gıdalara olan ilgisi gün geçtikçe artmaktadır. Tüketicilerin sağlıklarını korumak amacıyla, yan etkileri gözlenebilen

ilaçları kullanmak yerine fonksiyonel ürünleri tercih etmesi, fonksiyonel ürün pazarının hızla büyümesine ve bu alanda yapılan çalışmaların artmasına sebep olmuştur.

Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsü (International Life Science Institute-ILSI) bir gıda ürününün 'fonksiyonel' olarak nitelendirilebilmesi için, beslenmeye yönelik uygun niteliklerinin yanı sıra, vücudun bir ya da daha fazla hedef işlevini daha sağlıklı ve iyi duruma getirmek ve/veya hastalık riskini azaltmak yoluyla yararlı yönde etkili olması gerektiğini belirtmiştir (Özdemir ve diğ., 2009). Fonksiyonel gıda tanımı ilk kez 1980'li yılların sonunda Japonya'da kullanılmıştır. 1991 yılında 'Spesifik Sağlık Kullanımındaki Gıdalar için Etiketleme Düzenlemeleri' (FOSHU) ile fonksiyonel gıda kavramı ilk kez yasal olarak Japonya tarafından kabul edilmiştir. Bu tanım içerisinde günlük beslenme ile alınan gıdalar dahil edilirken, hap, tablet ya da kapsül formundaki gıda ve gıda katkıları bu tanımlama içerisinde alınmamaktadır (Anonim, 1998).

Uzun yıllardır tüketilen gıdaların çoğunun insan sağlığı üzerine etkileri bilinmektedir. Bu gıdalar üzerine yapılan çalışmalar sonucu, gıda katkıları ve gıdaların sağlık üzerine olan etkileri hakkında daha sistematik bilgiye sahip olunmasıyla tüketici yararına daha sağlıklı bir beslenmenin oluşması sağlanmıştır (Ziemer ve Gibson, 1998). Genel olarak fonksiyonel gıdalar, temel besin öğeleri gereksinimini karşılamanın yanında, sağlık üzerinde etkili olan, hastalıklardan korunma ve tedavide yarar sağlayan gıdalar olarak tanımlanabilir (Huggett ve Verschuren, 1996). İlk olarak kalsiyum ve bazı vitamin benzeri bileşiklerin sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle gıdalara ilavesi ile ortaya çıkan fonksiyonel ürünler, ilerleyen zamanlarda bağırsak florası üzerindeki olumlu etkileri ile probiyotikleri de kapsamı içerisinde almıştır (Sanders, 1998; Ziemer ve Gibson, 1998). Bu anlamda probiyotiklerin, ürünlerin sağlığı destekleyici ve besleyici özelliklerini arttırmak amacıyla özellikle fermente süt ürünlerinde kullanımı hızlı bir artış göstermiştir.

Sağlığa faydalı olan canlı mikrobiyel yiyecek katkısı (Reid ve diğ., 2003) olarak da ifade edilen probiyotik kavramı ile birlikte fonksiyonel gıda teriminin ortaya çıkması yakın bir geçmişe dayanmakta, bu konuda yapılan çalışmalar ve beraberinde pazar payı gün geçtikçe artmaktadır. Avrupa, Japonya ve Avustralya'da gelişen bu pazar probiyotik, prebiyotik ve simbiyotikleri içeren gıdaları kapsamaktadır. Fonksiyonel özellikli bu mikroorganizmalar aynı zamanda fermantasyon süresi boyunca ürettikleri

biyoaktif metabolitler ile dolaylı olarak sağlık üzerine etki sağlamaktadır (Stanton ve diğ., 2005).

İçerisinde belirli bir bileşenin az ya da çok miktarda bulunması ile fonksiyonellik kazanan ürünlerin yanı sıra, ürün içeriğine belli bir bileşenin ilave edilmesi veya çıkartılması ile fonksiyonellik kazanan ürünler de fonksiyonel gıda kapsamına girmekte (Özdemir ve diğ., 2009), yine aynı işlemler uygulanarak bir ürüne daha fazla fonksiyonellik kazandırılabilir (Ziemer ve Gibson, 1998). Yani bir gıdanın fonksiyonel ifadesini alabilmesi için vücutta hedeflendiği şekilde bir veya daha fazla olumlu etki meydana getirmesi (Bellisle ve diğ., 1998), geleneksel beslenme etkisinin yanı sıra fizyolojik ve psikolojik etki göstermesi de gerekmektedir (Clydesdale, 1997). Fonksiyonel gıda ürünlerinin tercih edilme nedenlerinden biri de tüketicilerin beslenme alışkanlıklarını değiştirmeden sağlıklarını koruma istekleridir (Larsen ve Grunert, 2003). Fonksiyonel ürün pazarının özellikle Amerika, Avrupa ve Japonya'da hızla büyüdüğü, yıllık büyüme oranının ortalama % 20 civarında olduğu belirtilirken (Özdemir ve diğ., 2009), probiyotik ürün pazarı ise özellikle Amerika'da gelişme göstermektedir (Güven ve Gülmez, 2006).

Bugün diğer ülkelerden farklı olarak sanayileşmiş ülkelerin; bireylerinin sağlığını daha uygun maliyetlerle koruma, yaşlı nüfuslarına sadece uzun değil aynı zamanda daha iyi bir yaşam sunmanın yanı sıra, daha kısıtlı zamana sahip tüketiciler için sağlıklı gıdalar hazırlamak ve hazır yemek sektöründe seçenek sunmak gibi daha farklı zorunlulukları bulunmaktadır (Sanders, 1998; Roberfroid, 1999; Güven ve Gülmez, 2006).

Fonksiyonel gıdalar bitkisel ve hayvansal kaynaklar olmak üzere iki sınıftan oluşmaktadır. Yulaf, keten tohumu, domates ve ürünleri, üzüm, turunçgiller, çay ve çeşitli sebzelerin sayılabileceği bitkisel kaynaklar kolesterolün düşürülmesi, koroner kalp hastalıkları, kanser tipleri oluşum riskinin azaltılması, üriner sistem hastalıklarının tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Aynı zamanda süt ürünleri, balık ve et ürünlerinin yer aldığı hayvansal kaynaklı fonksiyonel gıdaların ise kalp hastalıkları, osteoporosis ve kolon kanseri riskinin önlenmesinde rol aldığı belirtilmektedir (West ve diğ., 1998; Güven ve Gülmez, 2006). Diğer taraftan sağlıklı beslenmenin bir parçası olarak tüketilen fonksiyonel gıdaların toksik etkilerinin olabileceği de göz önüne alınmalı,



fonksiyonel gıdalar ve biyoaktif bileşenler için de maksimum alım dozu belirlenmelidir (Hathcock, 1995).

Yapılan çalışmalar tüketiciler tarafından fonksiyonel gıdaların tüketiminin, gıdanın güvenilirliği ve yarattığı sağlık etkilerinin yanı sıra tadıyla da ilişkili olduğunu göstermektedir (Grunert ve diğ., 2000; Urala ve Lähteenmäki, 2003). Tüketiciler fonksiyonel gıda tüketimi ile kazanacakları olumlu sağlık etkileri karşısında ürünün tadından ödün vermeye hazır oldukları için (Cox ve diğ., 2004), gıdaların fonksiyonelliğini arttırmak amacıyla biyoaktif ve bitkisel kaynaklı bileşenlerle de sağlanabilen duyuusal özellikleri her zaman değiştirmek gerekli değildir (Urala ve Lähteenmäki, 2004).

Fonksiyonel gıdaların gelişimi, gıda kalitesinin artırılması ve tüketici sağlığının desteklenmesi açısından önemli bir adımdır. Fonksiyonel ürünler içerisinde özellikle süt ürünleri büyük bir öneme sahiptir. Sağlık üzerine etkileri açısından fonksiyonel süt ürünleri; gastrointestinal sistem üzerine etkisi olan süt ürünleri, kalp ve damar sağlığına etkili süt ürünleri ve osteoporoz ve diğer durumlara etkili süt ürünleri olarak sınıflandırılmaktadır. Çeşitli laktik asit bakteri içecekleri, yoğurtlar, çeşitli probiyotik süt karışımları piyasada yaygın olarak bulunan probiyotik süt ürünleridir (Seçkin ve Baladura, 2011).

#### **1.4. Keçi Sütü ve Besinsel İçeriği**

İnek sütüne oranla daha beyaz bir renge sahip olan keçi sütünün asitliği 6,4-10,0 °SH, yoğunluğu 1,028-1,041 g/ml arasındadır. Yapısındaki proteinli bileşiklerin yaklaşık  $\frac{3}{4}$ 'ü kazeinden oluştuğu için kazeinli sütler arasında yer almaktadır (Üçüncü,2008).

**Çizelge 1.2.** Çeşitli sütlerin besinsel içeriği (g/100g) (Degen, 2007).

Çeşit	Yağ	Protein	Laktoz	Toplam kuru madde
Keçi	3,4-4,5	2,8-3,7	3,9-4,8	11,5-13,5
İnek	3,4-5,5	4,6-4,9	4,6-4,9	12,3-14,5
Koyun	6,0-8,5	3,9-4,7	3,9-4,7	16,0-20,0
Deve	5,0-5,5	3,5-4,5	5,0-6,0	13,5-16,0
At	1,0-2,0	1,6-1,8	6,0-7,0	10,0-12,0

Et ve süt ürünlerinde keçinin önemli bir pay kazanması ile son yıllarda keçi yetiştiriliciliğinde ve keçi sütü üretiminde diğer memelilere göre önemli bir artış gözlenmiştir (Anonim, 2007). Son yıllarda üretimi artan keçinin daha önceleri diğer memelilere alternatif olarak düşünülmemesi, keçi sütünün çoğu birey tarafından kokulu, sert, tatlı veya tuzlu şeklinde tanımlanması da yetiştiriciliğin küçük ölçekli yapılmasına neden olmuştur (Mowlem, 2005; Park ve Drake, 2005; Pandya ve Ghodke, 2007). İnek sütüyle karşılaştırıldığında keçi sütü ve ürün pazarı hala yeterli seviyede olmasa da genel olarak iyi organize olmuş ülkelerde hızla genişlemektedir. Özellikle Asya ve Afrika ülkelerinde keçi sütü milli ve kırsal ekonomide önemli bir paya sahiptir. Akdeniz bölgesi dünya keçi sütü üretiminin % 18'ini karşılarken, keçi sütü tüm dünyada süt çeşitleri arasında % 2'lik bir paya sahiptir (Pandya ve Ghodke, 2007).

Kırsal kesimde ev yetiştiriciliğine uygun olması, bireylerin bilinçlenmesi ile keçi yoğurdu, peyniri gibi ürünlere talebin artması, çeşitli sağlık problemleri nedeniyle inek sütü tüketemeyen bireylerin keçi sütü tercihi keçi yetiştiriciliği ve keçi sütü üreticiliğinin artmasını sağlamıştır. Genel olarak tüketilen keçi peyniri ve yoğurdunun yanı sıra, pastörize ve UHT içecekler, koyulaştırılmış süt, dondurma, süt tozu ve geleneksel ürünler olarak da tüketimi mevcuttur (Pandya ve Ghodke, 2007).

Keçi sütü, inek sütüne göre farklı oran ve çeşitte kazein içermekte, yağ partiküllerinin büyüklüğü, yapısı ve protein miselleri bakımından farklılık göstermektedir (Tziboula Clarke, 2003). Kazein miselleri inek sütüne kıyasla daha yüksek oranda dağılıma sahip olup, yüksek mineralizasyon ve düşük hidrasyon göstermektedir (Vargas ve diğ.,2008).  $\alpha$ -s-1 kazeini hiç içermeyen ya da çok az içeren,

fakat bunun yerine  $\alpha$ -s-2 kazeine sahip keçi sütü daha az verimli, daha uzun rennet koagülasyonu gerektiren, zayıf pıhtı sıklığına sahip olup, insan sindirim sistemi için son derece yararlıdır (Ambrosoli ve diğ., 1988). Protein yapısındaki farklılık protein zincirindeki aminoasit diziliminden kaynaklı olup, keçi sütü ürünlerine farklı sindirilebilirlik, peynir yapım özellikleri ve aroma kazandırırken (Rystad ve diğ., 1990; López Aliaga ve diğ., 2003), yüksek oranlarda esansiyel aminoasitleri de bünyesinde barındırmaktadır. Diğer taraftan özellikle kalp ve damar hastalıkları üzerinde yararlı etkileri olan tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri ile orta zincirli trigliseritlere sahiptir (Haenlein, 2004). Sahip olduğu yağ içeriği daha kolay sindirilebilmekte (Alferez ve diğ., 2001), çeşitli metabolik hastalıkların önlenmesinde ve metabolik aktiviteler için enerji kaynağı olarak kullanılabilir (Sanz Sampelayo ve diğ. 2007). Ancak sahip olduğu besinsel içeriği iklim şartları ve mevsime, hayvanın cinsine, beslenmesine ve yetiştirildiği ortama bağlı olarak değişim göstermektedir.

Keçi sütü özellikle; inek sütü ile yeterince beslenemeyen gelişmekte olan, açlık problemi yaşayan ülkelerde, inek sütüne karşı çeşitli alerjik problemleri ve gastrointestinal sistem bozuklukları olan toplumlarda ve gelişmiş ülkelerde bilinçli tüketicinin gastronomik ihtiyaçları paralelinde büyüyen bir pazar payına sahiptir (Haenlein, 2004; Mowlem, 2005; Pandya ve Ghodke, 2007). Ancak folik asit bakımından zengin bir kaynak olmadığı için keçi sütü tüketilen beslenme programlarında mutlaka folik asit takviyeleri kullanılmalıdır (Pandya ve Ghodke, 2007)

Yapılan çalışmalar ile yeni doğan çocuklarda özellikle ilk üç yıl gözlenen inek sütü alerjisinin keçi sütü kullanımı ile önlenildiği, keçi sütü ile beslenen çocukların çeşitli mineral ve vitaminleri kazanımının daha fazla olduğu belirtilmiştir (Haenlein, 2004). Barrionuevo ve diğ. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada sindirim problemi bulunan sığırcıların inek sütü yerine keçi sütü ile beslenmesi sonucunda bakır ve demirin yüksek emilimi gözlenmiştir. Diğer taraftan keçi sütünün orta zincir uzunluğuna sahip trigliseritlerin varlığı sayesinde kolesterolü düşürücü etkisi olduğu da belirtilmektedir (Alferez ve diğ., 2001; Barrionuevo ve diğ., 2002).

### 1.4.1. Türkiye ve Dünyada Keçi Sütü ve Ürünleri

Keçi sütü üretimi % 84,6'lık paya sahip inek sütü üretimi ile karşılaştırıldığında % 2,1'lik bir orana sahip olup, özellikle son yıllarda dünya keçi üretiminde % 55'lik bir artış gözlenirken, bu artışın paralelinde keçi sütü üretiminde de % 58'lik bir artış gözlenmiştir (Haenlein ve Abdellatif, 2004). Keçi sütünün özellikle beslenme ve sağlık üzerine yararlı etkilerinin kanıtlanması ile özellikle son yıllarda artan keçi sütü üretimi dikkat çekmektedir. Çoğu yerde küçük ölçekli olarak gerçekleştirilen üretim, günümüzde endüstriyel boyutta önem kazanmış ve sanayileşme adına çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Türkiye'de üretilen keçi sütü, diğer sütlerle karıştırılarak peynir ya da doğrudan dondurma üretiminde kullanılırken (Pirisi ve diğ., 2011; Savran ve diğ., 2011), dünyada içme sütü olarak tüketimin yanında özellikle peynir ve yoğurda işlenerek tüketilmekte, belli bir kısım ise dondurma ve yağ üretimine ayrılmaktadır. Diğer taraftan özellikle yurt dışında bu tüketimin yanı sıra çeşitli sağlık marketlerinde, hazır yemek pazarında ve özel peynir marketlerinde tüketimi söz konusudur. Özellikle İngiltere'de üretimi teşvik amaçlı görev yapan Süt Pazarlama Komisyonu (Milk Marketing Board, MMB) üreticilerin sütlerini toplayarak üreticiye pazar, fiyat ve üretim stabilitesi konularında garanti sağlamaktadır. Yine son yıllarda tüketici bilincinin artması, ürün çeşitliliğinin artmasını teşvik etmiş, bu sayede artan reklam kampanyaları da üretimin artmasına büyük oranda destek olmuştur (Mowlem, 2005). Özellikle Akdeniz ülkeleri; Yunanistan, İspanya, Fransa ve İtalya başta gelen koyun ve keçi sütü üreticileridir (Dubeuf ve Le Jaouen, 2005).

Dünyada keçi sütü ve ürünlerinin üretim ve tüketiminin artmasına rağmen, Türkiye'de son yıllara kadar toplam süt üretiminin yaklaşık olarak % 2'lik kısmını oluşturan keçi sütü üretim ve tüketim oldukça düşük seviyededir (Anonim, 2010c). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar ve keçi yetiştiriciliği amacıyla kurulan çiftlikler üretimi arttırmaya yönelik girişimlerdir. Nitekim bu gelişmeler sonucunda Türkiye dünya keçi sütü üretiminde %3'lük bir pay ile 11. sırada yer almaktadır (Yerlikaya ve diğ., 2011).

Savran ve diğ. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, özellikle yüksek gelirli, orta yaş üzeri kesimin keçi sütü ve ürünlerine yönelik talebinin daha fazla olduğu, kentsel kesimde keçi sütü ve peyniri tüketiminin sırasıyla % 5 ve % 27 olduğu, yıllık

kişi başi keçi sütü tüketiminin ise 350 ml olduğu belirtilmiştir. Keçi sütü yüksek besinsel değerinin yanı sıra tüketiciler tarafından olumsuz karşılanan koku, farklı tat ve aroması nedeniyle daha az tüketilmekte, keçi yoğurdu ve peyniri olarak tüketimi daha yaygın görölmektedir (Mowlem, 2005).

### 1.5. Yoğurt

Günümüzde önemli bir fermente süt ürünü olan yoğurt, uygun sıcaklıkta spesifik bakterilerin kullanılması ile üretilmektedir. Yoğurt temelde kolay bozulan ürünlerin muhafaza süresini uzatmak için geliştirilmiş bir yöntem olan fermantasyon tekniği ile üretilen bir üründür. Dünyanın bazı bölgelerinde yaygın olarak tüketilen yoğurt, inek, koyun, keçi, manda ve diğer sütler kullanılarak üretilmekte ve tüketicinin istekleri doğrultusunda çeşitlenmekle birlikte çoğu yerde geleneksel yöntemlerle üretimi tercih edilmektedir (Akın, 2006).

Çoğu ülkede *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kullanılarak elde edilen ürün olan yoğurt Türk Standartları'nda 'birinci sınıf inek sütü, koyun sütü, keçi sütü, manda sütü ve pastörize süttten biri veya birkaçının karışımının gerektiğinde süt tozu ilavesiyle homojenize edilip veya edilmeden *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* etkisiyle laktik asit fermantasyonuna yoğurt yapım kurallarına uygun olarak tabi tutulması sonucu elde edilen ürün' olarak ifade edilmektedir (Anonim, 1999). Üretimde kullanılan bu bakteriler süt şekerini kullanarak laktik asit üretir, asitliğin düşmesi ile denatürasyon olarak ifade edilen süt proteinlerinin koagüle olması sağlanır (Robinson ve Tamime, 1986). Bu iki bakteri genellikle tat, aroma ve çeşitli sağlık etkileri yaratmak üzere diğer LAB ile birlikte kullanılmaktadır (Yıldız, 2010; Tamime ve diğer., 2005).

FAO/WHO tarafından yoğurt 'laktik asit fermantasyonu sonucu elde edilen koagüle süt ürünü' olarak tanımlanırken, Uluslararası Sütçölük Federasyonu (IDF) 'tam yağlı, yağlı, yarım yağlı, az yağlı, yağsız süt, konsantre süt, süt tozuyla kuru maddesi arttırılmış süt, homojenize veya homojenize edilmemiş, pastörize veya sterilizasyon işleminde sonra soğutulup özel laktik asit bakterilerini içeren starter kültürlerle tek başına veya karışimleri kullanılarak fermente edilmiş, içerisinde tüketimden önce canlı laktik asit bakterileri içeren bir ürün' olarak tanımlamaktadır.

Yoğurdun ilk defa nerede üretildiği ile ilgili olarak kesin bir bilgi bulunmasa da çoğu kaynakta Türkler tarafından yapıldığı desteklenmektedir. Başlatıcı kültürler ile birlikte probiyotik bakteriler kullanılarak da yoğurt üretimi gerçekleştirilmektedir (Donkor ve diğ., 2007; Kearney ve diğ., 2009). Ancak bu durum inkübasyon süresinin uzamasına ve ürünün başta aroma ve tadı olmak üzere, kalitesinde önemli değişikliklere neden olmaktadır. Fermente süt ürünlerinde son üründen beklenen kaliteyi elde edebilmek için üretimde kullanılan başlatıcı kültürler ve ihtiva ettikleri probiyotik suşlarla oranları kilit noktayı oluşturmaktadır. Bu nedenle kültürün fermantasyon süresi, oluşturduğu yumuşaklık ve tekstür, şeker toleransı ve asitlik sonrası stabilitesi aranan özellikler arasındadır (Tamime ve diğ., 2005).

Yarı katı fermente süt ürünü olarak belirtilen yoğurt; aroma, tekstür, kıvam gibi özellikleri bakımından bölgeler arasında çeşitlilik göstermektedir (Yıldız, 2010). Sütün içerdiği laktozun parçalanarak laktik aside dönüşmesi ile gerçekleşen fermantasyonun farklı yöntemler kullanılarak yapılması dünyanın farklı yerlerinde farklı ürünlerin elde edilmesini sağlamaktadır. İnek sütünden farklı kazein yapısına, yağ globülleri ve protein misellerine sahip olan keçi sütü sahip olduğu bu farklılıklardan dolayı jel yapısı ve jelleşme süreci bakımından farklılıklar göstermekte bu da farklı kalitede bir son ürün eldesine sebep olmaktadır. Bu durumda keçi yoğurdu inek sütünden üretilmiş yoğurda kıyasla pıhtı sıklığı, yumuşaklık ve viskozite bakımından farklılıklar göstermektedir (Karademir ve diğ., 2002). Diğer taraftan keçi yoğurdu daha az sineresiz, zayıf jel yapısı ve keskin tat göstermektedir (Haenlein, 2004).

Vargas ve diğ. (2008) tarafından keçi sütü, inek sütü ve inek sütüne % 75, 50, 25 oranlarında keçi sütü karıştırılması ile üretilen yoğurtlardan % 100 ve % 75 oranında keçi sütünden üretilmiş yoğurtların depolama süresi boyunca en düşük pH'ya sahip olduğu belirlenmiştir. % 100 keçi sütünden üretilen yoğurtlarda gözenekli matriks yapısının daha yüksek olduğu, bu yoğurdun yağ globüllerinin sadece inek sütü ile üretilenden daha küçük yapıda olduğu belirlenmiştir. Güler ve Gürsoy Balcı (2011) tarafından farklı başlatıcı kültürlerle, keçi sütü, koyun sütü ve iki sütün karışımı kullanılarak üretilen yoğurtlarda toplam kuru madde, yağ, protein ve kül miktarları sırasıyla; koyun sütünden üretilen yoğurtlarda %16, % 5,3, % 5,5, % 1,29; keçi sütünden üretilen yoğurtlarda % 14,03, % 3,9, % 4,15, % 1,08; ikisinin karışımından

üretileen yoğurtlarda ise % 15,14, % 4,70, % 4,67, % 1,26 olarak belirlenmiş, en yüksek oranlar ise koyun sütü kullanılarak üretilen yoğurtlarda gözlenmiştir.

*Str. salivarius* subsp. *thermophilus* CR12, *L. casei* LC01, *L. helveticus* PR4, *L. plantarum* 1288 kullanılarak keçi sütünden üretilen fonksiyonel ürünlerde 45 günlük depolama süresi sonrasında bile LAB sayısının 7,0 log<sub>10</sub> KOB/g'dan daha düşük olmadığı bildirilmiştir (Minervini ve diğ., 2009). Senaka Ranadheera ve diğ. (2012) tarafından *L. acidophilus* LA-5, *Bf. animalis* subsp. *lactis* BB-12 ve *P. jensenii* 702 suşları kullanılarak üretilen probiyotik keçi yoğurtlarının 4 haftalık depolama süresince *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* sayısında önemli bir azalma olmadığı, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının 10<sup>8</sup> KOB/g'dan 10<sup>6</sup>-10<sup>5</sup> KOB/g düzeyine düştüğü gözlenmiştir. 4 haftalık depolama süresi sonucunda *P. jensenii* 702 ve *Bf. animalis* subsp. *lactis* BB-12 sayısının yaklaşık olarak 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> KOB/g düzeyinde olduğu, ancak *L. acidophilus* LA-5 suşunun ise 10<sup>5</sup> KOB/g'dan daha düşük bir seviyede tespit edildiği bildirilmiştir.

### 1.5.1. Süt ve Süt Ürünleri Tüketiminin Sağlık Üzerine Etkileri

Oldukça kompleks bir gıda sistemi olan süt ve süt ürünleri, fiziksel gelişimin desteklenmesine, bağışıklık sisteminin güçlenmesine katkı sağlarken, çeşitli vitamin, mineral, lipid ve proteinlerin alımını sağlayarak sindirim sistemini de desteklemektedir. Süt hücre gelişimine katkı sağlama, sindirim sistemi ile bağırsak mikroflorasının gelişimini destekleme gibi etkileri sayesinde özellikle yeni doğan bebeklerin beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Vitamin, mineral, protein, peptid, aroma bileşenleri gibi sütte bulunan veya fermantasyon süresince üründe oluşan bileşenler de süt ve ürünlerinin önemini arttırmaktadır (Akın, 2006; Yıldız, 2010). Süt proteinlerinin çeşitli metabolik düzensizlikler sonucu oluşan obezite gibi beslenmeye dayalı hastalıkları önlemede de etkili olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalar sağlıklı beslenmenin bir parçası olarak düzenli tüketilen süt ve ürünlerinin çoğu hastalığın önlenmesinde etkili olduğunu göstermektedir (Mattila Sandholm ve Saarela, 2003). Sindirim sistemi, kalp ve damar hastalıkları, ürogenital hastalıklar, dermatoloji, yaşlanma, ağız sağlığı ile ilgili sorunlar, bağışıklık sistemi hastalıkları, alerji, sinir

sistemi hastalıkları riskinin düzenli süt ve süt ürünleri tüketimi ile azaltılabileceği belirtilmektedir.

nemli süt ürünlerinden biri olan yoğurdun kimyasal bileşimi süte benzemekle birlikte üretimi sırasında kuru madde oranının değişmesi ve içerisindeki LAB'nin fermantasyon sırasında oluşturduğu değişiklikler çeşitli farklılıklara neden olmaktadır. Yoğurt bakterileri tarafından n sindirime tabii tutulan proteinlerin pepton ve aminoasitlere, süt yağının da yağ asitlerine dönüşümü ve laktozun kısmi hidralizasyonu yoğurdun sindirilebilirliğini arttırmaktadır (Akgün ve Yazıcı, 2011)

Diğer taraftan fonksiyonel özellikteki süt ürünleri sahip oldukları LAB sayesinde sindirim sistemi mikroflorasının gelişimine katkı sağlayarak zararlı bakterilerin gelişimini engellemektedir. Yapılan alışmalar bağışıklık sistemini de destekleyen bu ürünlerin toksin ve karsinojenlere karşı da etkili olduğunu göstermektedir (Yıldız, 2010). Fermantasyon boyunca LAB bir dizi ikincil metabolit sentezlemektedir. Sentezlenen bu metabolitlerden bazıları sağlığı destekleyici özellikler taşıyan B vitaminleri, gıda proteinlerinden serbest kalan biyoaktif peptidler gibi bileşiklerdir (Stanton ve diğer., 2005). Ayrıca ürettikleri organik asitler, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, diasetil, asetaldehit, bakteriyosin gibi bileşiklerle antimikrobiyel etki sağlamaktadırlar. Üretilen bu antimikrobiyel bileşenler ise Gram pozitif ve negatif patojenlere karşı antagonistik etki göstermektedir (Annuk ve diğer., 2003; Akpınar ve Başyiğit Kılıç, 2012). Diğer taraftan probiyotik gıdalar arasında probiyotik bakteri alımının sağlandığı en doğal yolun yoğurt ve günlük olarak tüketilen süt ürünleri olduğu belirtilmektedir (ağlar ve diğer., 2005). Temel besinsel içeriği ile özellikle çocukların beslenmesinde önemli bir yeri olan süt ürünleri sağladığı fonksiyonel özelliklerle birlikte içerdiği kazein, kalsiyum ve fosfor sayesinde çürüklerin önlenmesi ve ağız mikroflorasının desteklenmesi üzerine de katkı sağlamaktadır (Levine, 2001; Petti ve diğer., 2001).



## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

Ülkemizin Sivas, Hatay, Denizli, Burdur, Isparta, Zonguldak, Aydın, Afyon, Muğla (Bodrum) illeri halk pazarlarından toplanan, özellikle evlerde ve mandıralarda küçük ölçekli, geleneksel yöntemlerle üretilmiş farklı çeşitteki 40 adet yoğurt örneği izolasyon materyali olarak kullanılmıştır. Yoğurtlar soğuk zincir kırılmadan laboratuvara ulaştırılmış ve analizler süresince buzdolabında muhafaza edilmiştir.

**Çizelge 2.1.** İllere göre yoğurt örneklerinin dağılım tablosu.

İller	Yoğurt örneği sayısı
Afyon	3
Aydın	3
Burdur	4
Denizli	2
Hatay	3
Isparta	17
Muğla (Bodrum)	5
Sivas	1
Zonguldak	2

### 2.2. Yöntem

#### 2.2.1. Yoğurt Örneklerinin İzolasyon için Hazırlanması

Tartılan 10 g yoğurt örneği 90 ml steril  $\frac{1}{4}$  ringer çözeltisi ile homojen hale getirilmiş ve  $\frac{1}{4}$  steril ringer çözeltisi ile 1/10 oranında seyreltilerek seri dilüsyonları hazırlanmıştır.

### 2.2.2. İzolasyonda Kullanılan Besiyerleri

Yoğurt örneklerinden *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolasyonu için de Man Rogasa Sharp agar (MRS agar) (Merck) besiyeri, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* izolasyonu için M17 agar besiyeri (Merck), *L. johnsonii*, *L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus* ve *L. casei* izolasyonu için modifiye MRS agar besiyeri kullanılmıştır (Ravula ve Shah, 1998).

#### MRS Agar Besiyeri

Proteoz pepton	10,0	g
Et ekstraktı	10,0	g
Maya ekstraktı	5,0	g
D- Glikoz	20,0	g
Sodyum asetat	5,0	g
Dipotasyum hidrojen fosfat	2,0	g
Magnezyum sülfat 7H <sub>2</sub> O	0,2	g
Manganez sülfat 4H <sub>2</sub> O	0.05	g
Tween 80	1	ml
Amonyum sitrat	2,0	g
Agar	15	g
Destile su	1000	ml

*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolasyonu için 15 g/l agar içeren MRS agar besiyeri, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* izolasyonu için 15 g/l agar ve 5 g/l laktoz içeren M17 agar (Merck) besiyeri kullanılmıştır. *L. johnsonii* ve *L. rhamnosus* GG izolasyonu için D-glikoz ilave edilmeden, 121 °C'de 15 dakika steril edilerek hazırlanan MRS besiyeri bazal ortamına sırasıyla 0,45 µm'lik filtreden geçirilerek steril edilen 20 g/l maltoz ve 20 g/l mannitol ilave edilmiştir. *L. acidophilus* ve *L. casei* izolasyonu için hazırlanan MRS bazal ortamı 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. *L. acidophilus* izolasyonu için 121 °C'de 15 dakika steril edilmiş MRS ortamına, 0,45 µm'lik filtreden geçirilerek steril edilmiş % 10'luk salisin; *L. casei* izolasyonu için ise aynı şekilde steril edilmiş % 10'luk D-sorbitol çözeltisi son konsantrasyonda % 1 olacak şekilde ilave edilmiştir (Ravula ve Shah, 1998).

Laktobasil izolatlarının aktifleştirilmesi için % 0,05 sistein-HCl (Merck) içeren MRS sıvı besiyeri, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* izolatlarının aktifleştirilmesi için ise M17 sıvı besiyeri kullanılmıştır (Kontula ve diğ., 2000; Temmerman ve diğ., 2003).

### **2.2.3. İzolasyon**

LAB'nin izolasyonu De Man ve diğ. (1960) ve Kontula ve diğ. (2000)'ne göre yapılmıştır. Yoğurt örneklerinden  $10^{-5}$ 'e kadar steril ¼ ringer çözeltisi ile seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan  $10^{-4}$  ve  $10^{-5}$  dilüsyonlarından 0,1 ml alınarak izole edilecek bakteri gruplarına özel besiyerlerine yayma kültür yöntemi ile ekim yapılmıştır. Ekim yapılan Petri kutuları anaerob jar içerisinde Anaerocult A mini kit (Merck) kullanılarak 42 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında izolatların koloni morfolojisi, Gram reaksiyonları ve katalaz aktiviteleri incelenmiştir (Erkkilä ve Petäjä, 2000). Kok ve çubuk şekilli, sporsuz, Gram pozitif, katalaz reaksiyonu negatif olan kolonilerin saf kültürleri elde edilip stoklanmıştır (Thornton, 1996; Hartemink ve diğ., 1997; Sönmez ve diğ., 1999).

#### **2.2.3.1. Preparatların Fotoğraflarının Çekilmesi**

Gram boyama sonrasında hazırlanan preparatlardan tipik basil ve kok görüntüsüne sahip olanların fotoğrafları ışık mikroskobu (Novel) kullanılarak çekilmiştir.

#### **2.2.3.2. Saf Kültürlerin Muhafaza Edilmesi**

Elde edilen saf kültürler uygun besiyerlerinde geliştirildikten sonra % 20 gliserol ortamında -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Manero ve Blanch, 1999; Çakır, 2003).

## 2.2.4. Yoğurt İzolatlarının Başlatıcı Kültür Olma Özelliklerinin Belirlenmesi

### 2.2.4.1. İzolatların Sütü Koagüle Etmesi

İzolatların sütü koagüle etme özelliğinin belirlenmesi için 110 °C’de 10 dk sterilize edilerek hazırlanan % 10’luk yağsız süt tozu besi ortamına % 2 oranında aktif kültür aşılansak 42 °C’de 36 saate kadar inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 16. ve 36. saatlerinde ortam pH’sı ölçülmüştür. 16 saate kadar sütü koagüle eden kültürler hızlı koagülasyon özelliğine sahip olarak, 36 saate kadar sütü koagüle edemeyen suşlar ise zayıf koagülasyon özelliğine sahip olarak nitelendirilmiştir (Hebert ve diğ. 2001).

### 2.2.4.2. İzolatların Laktik Asit Üretimi

İzolatların asit üretimini belirlemek için steril skim milk içerisine aktif kültürden % 2 oranında aşılansak 42 °C’de 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında örnekler AOAC (1999)’un 947.05 nolu metodu kullanılarak bire bir oranında destile su ile seyreltilmiş, üzerine % 1’lik fenolftaleyn belirteç çözeltisi eklendikten sonra 0,1 M’lık NaOH kullanılarak titre edilmiştir. İzolatların asit üretimleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak % laktik asit olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Laktik asit (\%)} = \frac{0,1 \text{ M NaOH(ml)} \times 0,009}{\text{Örnek (g)}} \times 100 \quad (2.1)$$

### 2.2.4.3. İzolatların Asetaldehit Üretimi

İzolatların asetaldehit üretimi NAD<sup>+</sup>’nın NADH’a enzimatik indirgenmesini baz alan asetaldehit belirleme kiti (Boehringer Mannheim, R-Biopharm AG, Darmstadt, Almanya) kullanılarak spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir (Chaves ve diğ., 2002). 10 ml MRS sıvı besiyeri içerisine % 1 oranında aşılansak kültürler 42 °C’de 16-18 saat inkübe edilmiş, sonrasında 4100 rpm’de 5 dk santrifüj işlemi ile hücreler hasat

edilmiştir. ¼'lük steril ringer çözeltisi ile yıkanan hücreler, % 1 oranında maya ekstraktı içeren 50 ml steril skim milk içerisine aşıl原因arak 42 °C'de 20 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında 40 g yoğurt örneği tartılmış, 4 ml % 20'lik sitrik asit çözeltisi ile iyice ezilerek hacmi destile su ile 50 ml'ye tamamlandıktan sonra karışım kaba filtre kağıdından süzölmüştür. Süzöntü yeterince berrak olması için 4100 rpm'de 5 dk santriföjlenmiş ve elde edilen berrak örnekten 0,2 ml alınarak kitte belirtildiği şekilde kit bileşenleri ile karıştırılıp spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır. Aşağıdaki formöl kullanılarak elde edilen absorbans değerinin asetaldehit konsantrasyonu hesaplanmıştır.

$$C = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \quad (2.2)$$

- C : Asetaldehit konsantrasyonu (g/l)  
V : Son hacim (ml)  
v : Örneğ hacmi (ml)  
MW : Asetaldehit moleköler ağırlığı (g/mol)  
d : Işık yolu (cm)  
ε : NADH standardı (340 nm için 6.3)  
ΔA : Örneğ absorbansı

#### 2.2.4.4. İzolatların Proteolitik Aktivite Tayini

İzolatların proteolitik aktivite tayini için Hull (1947) metodu modifiye edilerek kullanılmıştır (Karasu, 2006). 5 ml steril skim milk içeren deney tüpleri içerisine % 1 oranında aktif költür aşıl原因arak 37 °C'de 42 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında örneğ üzerine 1 ml destile su ve 10 ml 0,72 N TCA eklenerek karıştırılmış ve 10 dk bekletilmiştir. Süre sonunda örneğler Whatman 1 filtre kağıdından süzölmüş, süzöntüden 5 ml alınarak üzerine 10 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> tampon çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra üzerine 3 ml fenol ayıracı eklenerek mavi renk oluşuncaya kadar

karıştırılmıştır. İşlem sonunda örnekler 4100 rpm'de 20 dk süreyle santrifüjlenerek bulanıklık yaratan unsurların uzaklaştırılması sağlanmıştır. Elde edilen berrak mavi kısım alınarak spektrofotometrede 550 nm dalga boyunda optik yoğunluk ölçümleri yapılmıştır. Oluşan aminoasitlere eşdeğer olarak tirozin aminoasidi esas alınmış ve örneklerin proteolitik aktivitesi standart tirozin kurvesine göre belirlenmiştir (Yüksekdağ ve diğ., 2004).

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>,Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> tampon çözeltisi:** 75 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Applichem) ve 10 g Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (Sigma) tartılarak destile su ile çözülmüş ve hacim 500 ml'ye tamamlanmıştır.

**Fenol ayıracı:** 1 kısım folin-ciocalteus çözeltisi (Merck) 2 kısım destile su ile karıştırılarak her seferinde taze hazırlanmıştır.

**Standart tirozin kurvesinin çizimi:** 0,01, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08, 0,1, 0,15, 0,2 mg/ml tirozin içerecek şekilde hazırlanan 5 ml steril skim milk besiyerine metotta belirtilen aynı işlemler uygulanarak standart kurve çizilmiştir.

#### 2.2.4.5. İzolatların EPS Üretimi

İzole edilen laktobasil suşlarının EPS üretimleri Van Geel-Schutten ve diğ. (1998)'ne göre yapılmıştır. Bu amaçla hazırlanan şeker içermeyen MRS besiyeri 10 ml olacak şekilde tüplere dağıtılarak 121 °C'de 15 dk sterilize edilmiş, daha sonra 0,45 µm steril filtreden geçirilen glikoz çözeltisi 30 g/l olacak şekilde besiyerine ilave edilmiştir. Besiyerleri % 1 oranında aktif kültür ile aşılansak 42 °C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında besiyerinin 1 ml'si alınarak 3000 g'de 20 dk santrifüjlenerek süpernatant alınmış, alınan süpernatant üzerine 2 katı kadar soğuk etanol ilave edilmiş ve 1 gece 4 °C'de bekletilmiştir. Daha sonra 2000 g'de 15 dk santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmış, pelet eşit hacimde destile su ile çözüldürüldükten sonra üzerine 2 katı hacimde soğuk etanol eklenerek tekrar 2000 g'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjleme işleminden sonra elde edilen pelet 55 °C'de kurutularak tartılmış, sonuç mg/ml olarak ifade edilmiştir.

## 2.2.5. Yoğurt İzolatlarının Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi

### 2.2.5.1. Yapay Mide Suyunda Canlılığın Belirlenmesi

25 ml MRS sıvı besiyerinde 18 saat süre ile geliştirilen laktobasil suşları 4100 rpm'de 10 dk santrifjlenerek elde edilen pelet steril ¼ ringer çözeltisi ile yıkanmıştır. Elde edilen pelet pH'sı 3,5'e ayarlanmış yapay mide suyunda çözülerek 120 dk boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun başlangıcında, 30., 60., 90., 120. dk'larında alınan örneklerle ¼ steril ringer çözeltisi kullanılarak  $10^{-6}$  ya kadar seri dilüsyonları hazırlanarak  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  dilüsyonlarından MRS agar besiyerine damla kültür yöntemi ile ekim yapılmıştır. Ekim yapılan Petri kutuları 37 °C'de 48 saat inkübe edilerek inkübasyon sonrasında gelişen koloniler sayılmıştır (Xanthopoulos ve diğ., 2000; Corcoran ve diğ., 2005; Yavuzdurmaz, 2007).

#### Yapay mide suyu (l)

Glikoz	3,5	g
NaCl	2,05	g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,6	g
CaCl <sub>2</sub>	0,11	g
KCl	0,37	g
Domuz safrası	0,05	g
Lizozim	0,1	g
Pepsin	13,3	mg

Domuz safrası, lizozim ve pepsin dışındaki bileşenler tartılarak sulandırılmış, 1 M HCl ile pH'sı 3,5'e ayarlanarak 121 °C'de 15 dk süre ile steril edilmiştir. Hazırlanan çözeltiliye analiz öncesinde stok çözeltilerden 0,05 g/l domuz safrası, 0,1 g/l lizozim ve 13,3 mg/l pepsin olacak şekilde ilave edilmiştir.

### 2.2.5.2. % 0,4 Fenol Toleransının Belirlenmesi

İzolatlar % 0,4 fenol içeren ve içermeyen (kontrol) MRS sıvı besiyerine % 1 oranında inoküle edilerek 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sürecinin başında ve sonunda alınan örneklerden ¼ steril ringer çözeltisi kullanılarak uygun seyreltiler hazırlanmış ve MRS agar besiyerine damla kültür yöntemi kullanılarak ekim yapılmıştır. Ekim yapılan Petri kutuları 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiş, inkübasyon sonrasında koloniler sayılmıştır (Xanthopoulos ve diğ., 2000).

### 2.2.5.3. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Üretimi

İzolatların H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimini belirlemek için Muller (1995) tarafından modifiye edilen Rogosa-peroksidaz agar kullanılmıştır (Fontaine, Taylor Robinson 1990). Hazırlanan Rogosa-peroksidaz agar besiyeri üzerine 0,1 ml aktif kültür damlatılarak anaerob şartlarda 37 °C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında aerob ortama alınan Petri kutuları 37 °C'de 24 saat daha inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda koloniler etrafında görülen mor halkalar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi olarak ifade edilmiştir.

#### Rogosa Agar

Kazein peptonu	10	g
Maya ekstraktı	5	g
D glikoz	20	g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6	g
Amonyum sitrat	2	g
Tween 80	1	ml
Sodyum asetat	15	g
Magnezyum sülfat	0.575	g
Demir (II) sülfat	0.034	g
Manganez sülfat	0.12	g
Agar	15	g
Destile su	1000	ml



Besiyeri bileşenleri destile su içerisinde tamamen çözününceye kadar kaynar su banyosunda eritilmiş ve pH'sı % 96'lık asetik asit ile  $5,5 \pm 0,2$ ' ye ayarlanmıştır. 20 mg horseradish peroksidaz (Sigma) ve 400 mg 2'-azino-di-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) (Sigma) 100 ml destile suda çözündürülmüş, 0,45 µm'lik filtre ile steril edildikten sonra hazırlanan Rogosa agara 100 ml/l olacak şekilde ilave edilmiştir.

#### **2.2.5.4. β-Galaktozidaz Aktivitesinin Belirlenmesi**

β-galaktozidaz aktivitesinin belirlenmesinde Miller (1972) metodu kullanılmıştır. Bu amaçla 5 ml MRS sıvı besiyerinde geliştirilen aktif kültürlerden steril eppendorf tüplerine 1,5 ml alınarak 14000 x g'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pelet iki kez 60 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ /40 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (pH 7,0) çözeltisi ile yıkanmıştır. Elde edilen pelet % 1 olacak şekilde MRS-laktoz sıvı besiyeri içerisine aşılınmış ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Her örnek için 0,5 ml hücre dilüsyonu ile 0,5 ml 60 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ /40 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  çözeltisi içeren 3 tüp hazırlanarak buzlu su banyosunda bekletilmiş, tüplerin üzerine 1 damla % 0,1 SDS, 2 damla kloroform damlatılarak karıştırılmış ve 30 °C'deki su banyosunda 2 dk bekletilmiştir. Daha sonra her tüpe 0,2 ml o-nitrofenil-β-D-galaktozidaz (ONPG) eklenerek tüpler vortekslenmiş ve reaksiyonun başlama süresi kaydedilmiştir. Tüpler 30 °C'de bekletilerek sarı renk oluştuğu anda reaksiyonu durdurmak için üzerine 0,5 ml 1 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisi eklenmiş ve reaksiyonun bitiş zamanı kaydedilmiştir. Tüp içeriği karıştırıldıktan sonra 1 saat içerisinde 420 nm ve 550 nm dalga boylarında optik yoğunluk ölçümleri alınmıştır. Aynı işlemler sadece 1 ml 60 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ /40 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  çözeltisi içeren tüplere uygulanarak şahit okumaları gerçekleştirilmiştir. Diğer taraftan 0,5 ml hücre dilüsyonu ile 0,5 ml 60 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ /40 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  çözeltisininin 650 nm dalga boyunda optik yoğunluk ölçümleri alınmıştır. Bu değer 1,2'den büyükse seyreltme işlemi uygulanmıştır. β-galaktozidaz aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Miller 1972; Vinderola ve Reinheimer, 2003).

$$\text{Aktivite} = \frac{\text{OD}_{420} - (1,75 \text{ OD}_{550})}{\text{OD}_{650} \times \text{süre} \times \text{hacim}} \times \frac{1 \text{ nmol}}{0,0045 \text{ ml cm}} \times 1,7 \text{ ml} \quad (2.3)$$

Zaman :	Reaksiyon süresi (dk)
Hacim :	Deney tüpüne eklenen hücre ml'si
0,0045 OD <sub>420</sub> /nmol:	e <sub>420</sub> o-nitrofenol
1,7 ml :	Toplam hacim
Aktivite :	nmol/dk/OD <sub>650</sub> ml

**MRS-laktoz sıvı besiyeri:** Glikoz içermeyen MRS sıvı besiyeri hazırlanarak 121 °C'de 15 dk steril edilmiştir. Daha sonra destile su içerisinde çözülerek 0,45 µm'lik filtre ile steril edilmiş laktoz stok çözeltisinden son hacimde % 1 olacak şekilde sıvı besiyeri içerisine ilave edilmiştir.

**60 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O/40 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 7,0) çözeltisi:** 4,021 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O ve 1,42 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> tartılarak destile su içerisinde çözündürülmüş pH'sı 7,0'a ayarlandıktan sonra hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.

**1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi:** 10,599 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tartılarak hacim destile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

**ONPG (4mg/ml):** 80 mg o-nitrofenil-β-D-galaktozidaz (Sigma) tartılarak 20 ml destile su içerisinde çözündürülmüş ve her seferinde taze hazırlanmıştır.

## 2.2.6. Yoğurt Üretimi

### 2.2.6.1. Yoğurt Üretiminde Kullanılan Kültürler ve Üretim Grupları

Çalışmada kontrol ve deneme grubu olmak üzere iki farklı şekilde yoğurt üretimi gerçekleştirilmiştir.

Kontrol grubu (K) : İşletme kültürü

Deneme grubu (D) : İşletme kültürü + deneme kültür kombinasyonu

Üretimde kullanılan deneme kültür kombinasyonu; farklı yoğurtlardan izole edilen, teknolojik ve probiyotik açıdan en üstün özellikleri gösteren Lc14C, Lc37C, Lr12A ve Lr26A suşları ile hazırlanmıştır. Yoğurt üretiminde kullanılan işletme kültürü (Danisco) Çavuşoğulları Süt ve Gıda Mamülleri Sanayi ve Ticaret A.Ş. (Burdur)' den temin edilmiştir. Araştırmada Atatürk Orman Çiftliği tarafından üretilmiş olan yağlı, pastörize keçi sütü kullanılmış, üretim iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

### **2.2.6.2. Kültürlerin hazırlanması**

Üretimde kullanılan kültürler MRS sıvı besiyerinde son üründe  $10^7$ - $10^8$  KOB/ml olacak şekilde ayrı ayrı geliştirilmiş ve steril  $\frac{1}{4}$  ringer çözeltisi ile yıkanmıştır. Elde edilen kültür peleti üretimde kullanılan keçi sütü ile çözündürüldükten sonra üretimde kullanılan keçi sütü içerisine aşılanmıştır (Başyigit ve diğ., 2006).

### **2.2.6.3. Yoğurt üretimi**

Yoğurt üretimi Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'ne ait laboratuarda gerçekleştirilmiştir. Üretimde kullanılan pastörize ve homojenize keçi sütü su banyosunda aşılama sıcaklığı olan 44 °C'ye ısıtıldıktan sonra kontrol grubuna % 2 oranında işletme kültürü, deneme grubuna ise % 1 oranında işletme kültürü ile son üründe  $10^7$ - $10^8$  KOB/ml olacak şekilde deneme kültür kombinasyonu ilave edilerek sütler 100 ml'lik steril cam şişelere dağıtılmıştır. Sütler 42 °C'de pH'sı 4,5'e ulaşana kadar inkübe edilmiş, inkübasyondan sonra 4 °C'ye alınarak, 3 hafta süre ile bu sıcaklıkta depolanmıştır. Depolamanın 1, 7, 14 ve 21. günlerinde kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır (Üçüncü 2008).

### 2.2.7. Yoğurtların Mikrobiyolojik Analizleri

Üretilmiş olan yoğurtlarda depolama süresince kültürlerin canlılığını belirlemek amacıyla; *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* için M17 agar besiyerine ekim yapılarak Petri kutuları aerobik ortamda 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* için pH'sı 5,3'e ayarlanmış Reinforced Clostridia Agar (RCA) (Labm) kullanılarak besiyerleri 42 °C'de anaerobik ortamda 48 saat süre ile inkübe edilmiştir (Vasiljevic ve diğ., 2007). Lc14C ve Lc37C suşlarının sayımı için D-sorbitol içeren MRS agar besiyeri (Ravula ve Shah, 1998), Lr12A ve Lr26A suşlarının sayımı için ise glikoz yerine 20 g/l mannitol içeren modifiye MRS agar besiyeri kullanılmıştır. Tüm ekimler için steril ¼ ringer çözeltisi kullanılarak yoğurt örneklerinden seri dilüsyonlar hazırlanmış ve uygun dilüsyonlardan besiyerlerine ekim yapılmıştır. Ekim yapılan Petri kutuları anaerobik ortamda 42 °C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Yoğurt örneklerinin sahip olduğu toplam LAB sayısını belirlemek için MRS agar kullanılmış, Petri kutuları 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Toplam mezofilik aerob bakteri (TMAB) sayısı Plate Count Agar (PCA) (Merck) besiyeri kullanılarak 30 °C'de 48 saat inkübasyonla belirlenmiştir. Toplam koliform bakteri sayısı Eosin Metilen Blue Agar (EMB) (Merck), maya ve küf sayısı ise Potato Dekstroz Agar (PDA) (Merck) kullanılarak belirlenmiştir. EMB besiyeri 37 °C'de 48 saat, PDA besiyeri ise 25 °C'de 5 gün süre ile inkübe edilmiştir.

### 2.2.8. Yoğurtların Fizikokimyasal Analizleri

#### 2.2.8.1. Kuru Madde Tayini

Önceden etüvde kurutulup tartımı alınan ve içerisinde deniz kumu bulunan kurutma kapları içerisine yaklaşık 2-3 g olacak şekilde yoğurt örneği tartılarak 105±2 °C'de sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuştur. Kurutma öncesi ve sonrası alınan tartımlara göre örneklerin kuru madde miktarları % olarak hesaplanmıştır (Anonim, 1999).

$$\%KM = \frac{M_1 - M}{M_2 - M} \times 100 \quad (2.4)$$

- M : Kurutma kabı ağırlığı (g)  
M<sub>1</sub> : Kurutma kabı ve kalıntının ağırlığı (g)  
M<sub>2</sub> : Numune ve kurutma kabı ağırlığı (g)

### 2.2.8.2. Yağ Tayini

Üretilmiş olan yoğurtların yağ içeriği Gerber yöntemi ile belirlenmiştir. Yoğurt örneği saf su ile birebir oranında sulandırılarak homojen hale getirilmiştir. Bütirometre içerisine 10 ml sülfürik asit (d: 1,815±0,002 g/ml) koyularak üzerine 11 ml yoğurt örneği yavaşça eklenmiştir. Örnek üzerine 1 ml izoamil alkol (d: 0,810±0,002 g/ml) ilave edilmiş ve bütirometrenin tıpaları kapatılarak iyice karıştırıldıktan sonra Gerber santrifüjüne koyulmuştur. Örnekler 1100 devir/ dakika hızda 5 dakika süre ile santrifüjlendikten sonra bütirometrenin skalasında oluşan yağ sütunu okunarak kaydedilmiştir. Örnek hazırlama esnasında saf su ile seyreltme faktörü göz önüne alınarak okunan değerler 2 ile çarpılmış ve örneklerin yağ içerikleri belirlenmiştir (Anonim, 2002).

### 2.2.8.3. Titre Edilebilir Asitlik Tayini

Yoğurt örneklerinin titre edilebilir asitliği Türk Standartları Enstitüsü, 1330 Yoğurt Standardı'na göre belirlenmiştir. 100 ml'lik erlen mayer içerisine 10 g yoğurt örneği tartılarak üzerine 90 ml 40 °C'deki damıtık su ilave edilerek bir cam baget yardımıyla iyice ezilmiştir. Üzerine % 1'lik fenolftalein çözeltisinden 0,5 ml eklenerek N/4'lük sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi ile en az 30 saniye kaybolmayan pembe renk meydana gelinceye kadar titre edilmiştir. Yoğurt örneklerinin sahip olduğu asitlik % laktik asit cinsinden aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$A = \frac{V \times N \times 0,09}{m} \times 100$$

(2.5)

- A: Titre edilebilir asitlik, laktik asit cinsinden (kütlece yüzde)  
V: Titrasyonda harcanan NaOH çözeltisinin hacmi (ml)  
m: Örnek miktarı (g)  
N: NaOH çözeltisinin normalitesi

#### 2.2.8.4. pH

Yoğurt örneklerinin pH'sı pH metre (Hanna 211) ile ölçülerek belirlenmiştir.

#### 2.2.8.5. Proteoliz

Yoğurt örneklerinin proteoliz miktarı Hull (1947) metodu kullanılarak tirozin eşdeğeri olarak belirlenmiştir. 1 g yoğurt örneği tartılarak üzerine 4 ml saf su eklenmiştir. Üzerine 10 ml 0,72 N TCA ilave edildikten sonra homojenize edilmiştir. Hazırlanan homojen örnek Whatman 42 filtre kağıdından süzülerek süzüntüden 5 ml alınmıştır. Süzüntü üzerine 10 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> tampon çözeltisinden ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Daha sonra üzerine 3 ml fenol ayırıcı eklenerek mavi renk oluşuncaya kadar karıştırılmıştır. İşlem sonunda örnekler 4100 rpm'de 20 dk süreyle santrifüjlenmiş, elde edilen berrak mavi kısım alınarak spektrofotometrede 650 nm dalga boyunda optik yoğunluk ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen absorbans değerleri standart tirozin kurvesi kullanılarak tirozin eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

#### 2.2.8.6. Su salma

Su salma miktarının belirlenmesi için tartılan 20 g yoğurt örneği 640 g'de 4 °C'de 10 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüjleme işlemi sonrasında elde edilen supernatant tartılarak aşağıdaki eşitliğe göre su salma miktarları belirlenmiştir (Keogh ve O'Kennedy, 1998).

$$\text{Su salma (\%)} = \frac{\text{Supernatant ağırlığı (g)}}{\text{Yoğurt örneğinin ağırlığı}} \times 100 \quad (2.6)$$

### 2.2.9. Duyusal Değerlendirme

Yoğurtların duyusal değerlendirilmesi, depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde yoğurdun aroması, tadı ve yapısı konusunda bilgi sahibi, eğitilmiş 6 kişi tarafından TS 1330 Yoğurt Standardı'nda önerilen puanlama sistemi ve parametreler kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Anonim, 1999). Değerlendirme için panelistlere yoğurt örneklerinin görünüş, kıvam, tat ve kokusu ile ilgili sorular yöneltilmiştir. Duyusal değerlendirmede kullanılan puanlama sistemi Ek 12'de verilmiştir.

### 2.2.10. İstatistiksel Değerlendirme

Araştırma yoğurt üretimi iki tekerrürlü olarak yapılmıştır. İki farklı üretim grubu 21 günlük depolama süresinde analiz edilmiştir. Grup içi değişkenler ve gruplar arası değişkenlerin ortalamalarının farklı olup olmadığı Minitab 16 istatistik programı ile varyans analizi (One-way ANOVA) kullanılarak tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak önemli ( $p < 0,05$ ) görülen sonuçlara Tukey çok karşılaştırma testi uygulanmıştır.

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1. İzolasyon Sonuçları

Farklı illerden toplanan 40 adet yoğurt örneğinden 2.2.3’de belirtildiği şekilde uygun dilüsyonlar kullanılarak *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ve farklı LAB’ne özgü besiyerlerine ekim yapılmıştır. İnkübasyon sonrasında her bir Petri kutusundan sayım yapılarak, farklı morfolojik yapıdaki koloniler seçilmiştir. 8, 10 ve 11 numaralı yoğurt örneklerinden LAB izole edilememiş ve bu örneklerin maya küf içeriklerinin kabul edilebilir düzeyin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. İzolasyon sonrasında elde edilen bakteri grupları ve sayıları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

İzolatların isimlendirilmesinde ekim yapılan farklı bakteri gruplarının izolasyonu için kullanılan besiyerlerinin kısa isimleri (*L. johnsonii*- Lj, *L. rhamnosus*-Lr, *L. casei*-Lc, *L. acidophilus*- La, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*- St, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*-Lb), 1’den 40’a kadar ekim yapılan yoğurt örneklerinin numarası ve aynı Petriden seçilen farklı koloniyi belirtmek için A’dan başlayarak farklı harfler kullanılmıştır. Örneğin La27A şeklinde ifade edilen izolat *L. acidophilus* grubuna özgü besiyerinden 27 nolu yoğurt örneği kullanılarak izole edilen 1. izolatu, La27B şeklinde ifade edilen izolat ise *L. acidophilus* grubuna özgü besiyerinden 27 nolu yoğurt örneği kullanılarak izole edilen, La27A’dan morfolojik olarak farklı 2. izolatu belirtmektedir.

Örneklerden yapılan ekimler sonucunda Petri kutularından koloni seçiminde laktobasillere özgü krem renkli, mat ve düzgün kenarlı kolonilere öncelik verilmiş, seçilen farklı morfolojideki, Gram pozitif, katalaz negatif özellik gösteren kolonilerin saf kültürleri elde edilerek stoklanmıştır. Çalışılan 40 farklı yoğurt örneğinden Lj grubuna özgü besiyerinden 95 adet, Lc grubuna özgü besiyerinden 83 adet, La grubuna özgü besiyerinden 88 adet, Lr grubuna özgü besiyerinden 65 adet, St grubuna özgü besiyerinden 26 adet ve Lb grubuna özgü besiyerinden 25 adet izolat olmak üzere toplamda 382 adet izolat % 20’lik gliserol çözeltisi içerisinde stoklanmıştır. Şekil 3.1 ve 3.2’de izolatların mikroskop görüntüleri verilmiştir.

Yoğurt örneklerinde farklı besiyerlerinden elde edilen sayım sonuçlarının Lj besiyerinde  $10^6$ - $10^8$ , Lr besiyerinde  $10^4$ - $10^8$ , Lc, La, St ve Lb besiyerlerinde ise  $10^5$ - $10^8$  KOB/g arasında değiştiği belirlenmiştir.



**Çizelge 3.1.**Yoğurt örneklerinden elde edilen izolat sayıları.

İl*	Yoğurt no	İzolat Sayıları					
		La	Lc	Lj	Lr	Lb	St
S	1	2	2	2	2	2	1
H	2	2	-	-	-	-	-
D	3	3	4	2	1	-	3
D	4	3	3	2	8	1	2
Af	5	1	-	8	2	-	-
Af	6	1	-	4	-	-	-
Af	7	3	3	4	-	-	1
H	8	-	-	-	-	-	-
H	9	2	1	-	-	-	2
Z	10	-	-	-	-	-	-
Z	11	-	-	-	-	-	-
A	12	2	3	3	2	1	1
B	13	3	2	2	2	3	1
B	14	3	3	1	2	-	-
I	15	2	2	3	1	-	1
I	16	3	2	2	1	-	2
A	17	2	2	2	3	-	2
A	18	2	3	1	2	-	1
B	19	2	-	2	2	-	-
B	20	2	3	2	3	-	-
I	21	3	3	3	3	-	-
I	22	3	3	2	-	-	1
I	23	2	2	3	1	-	-
M	24	3	3	2	2	2	-
M	25	2	2	2	2	1	-
M	26	3	3	2	1	1	-
M	27	3	1	1	-	1	3
M	28	2	3	2	3	-	-
I	29	3	3	1	-	2	-
I	30	3	2	3	1	-	-
I	31	1	2	5	4	3	-
I	32	2	2	3	3	2	-
I	33	2	2	4	3	4	-
I	34	2	3	2	1	-	1
I	35	2	3	2	1	1	1
I	36	2	2	4	3	-	-
I	37	3	3	3	1	-	2
I	38	3	3	3	3	-	-
I	39	3	3	3	2	1	1
I	40	3	2	4	-	-	-

(\* A: Aydın, Af: Afyon, B: Burdur, D: Denizli, H: Hayat, I: Isparta, M: Muğla (Bodrum), S: Sivas, Z: Zonguldak )



**Şekil 3.1.** İzole edilen LAB'nin mikroskopik görünüşü.



**Şekil 3.2.** İzole edilen LAB'nin mikroskopik görünüşü.

## **3.2 Yoğurt İzolatlarının Başlatıcı Kültür Olma Özelliklerinin Belirlenmesi**

### **3.2.1. İzolatların Sütü Koagüle Etmesi**

Fermente süt ürünlerinin üretiminde LAB'nin başlatıcı kültür olarak kullanılabilmesi için gerekli olan en önemli özelliklerden birisi sütü koagüle etme yeteneğidir. Üründe gelişen asitlik sayesinde mikrobiyolojik olaylar hız kazanmakta, buna bağlı olarak da üründe istenilen yapı ve aromanın gelişimi sağlanmaktadır. Bu nedenle LAB sütü koagüle edebildikleri ölçüde teknolojik açıdan önem kazanmaktadır.

Araştırmamızda elde edilen 382 izolattan 42 tanesi depolama koşullarında canlılığını kaybettiği için çalışmaya 340 adet izolatla devam edilmiştir. Yoğurt izolatlarının sütü koagüle etme özelliklerini belirlemek için % 10 yağsız süt tozu ile hazırlanan ortama kültürler aşılanarak 42 °C'de 36 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Sütü koagüle etme özelliği incelenen 340 adet izolatın 320 adedinin 16 saatte sütü koagüle ederek hızlı koagülasyon yeteneğine sahip oldukları, ancak 20 adet izolatın 6,6 olan sütün başlangıç pH'sını inkübasyonun 16. saatinde 6,0'ın altına düşüremedikleri için zayıf koagülasyon yeteneğine sahip oldukları belirlenmiştir. Lj grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin 16 saat sonunda genel olarak pH'yı 3,51-4,95, Lr grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin 3,29-4,93, Lc grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin 3,37-4,86, La grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin 3,28-4,89, St grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin pH'yı 3,05-4,90, Lb grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin ise pH'yı 3,79-4,90 arasında düşürebildikleri belirlenmiştir. İzolatların sütü koagüle etme özelliklerine ait tablolar Ek-1, Ek-2, Ek-3, Ek-4, Ek-5, Ek-6'da verilmiştir.

### **3.2.2. İzolatların Laktik Asit Üretimi**

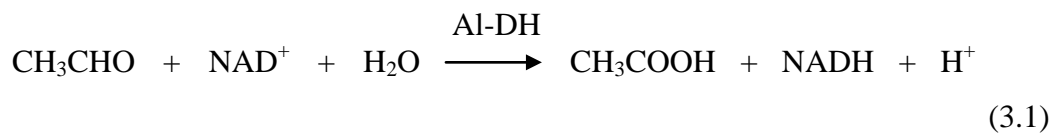
Yoğurt üretimi sırasında oluşan laktik asit hem yoğurdun karakteristik yapısının oluşmasında hem de yoğurdun istenen tat ve aromayı kazanmasında etkili olduğu için önem taşımaktadır. Bu amaçla sütü koagüle etme özelliği incelenen ve pH'yı 3,05-3,95 arasında düşürebildiği belirlenen 85 adet izolat (Ek-7) seçilerek asit oluşturma özellikleri incelenmiştir. Seçilen 85 izolatın 42 °C'de 3 saat inkübasyon sonrasında

oluşturdukları laktik asit AOAC (1999)'un 947.05 nolu metodu kullanılarak belirlenmiştir. İncelenen 85 adet izolattın laktik asit üretimlerinin % 0,14 ile 0,32 arasında değiştiği belirlenmiştir. Farklı bakteri gruplarının asit üretimleri Ek-8'de verilen tabloda gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde Lj grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin % 0,14-0,26, Lr grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin % 0,14-0,26, Lc grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin % 0,15-0,24, La grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin % 0,14-0,28, St grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin % 0,13-0,32, Lb grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin ise % 0,14-0,22 oranında laktik asit üretimine sahip oldukları belirlenmiştir.

### 3.2.3. İzolatların Asetaldehit Üretimi

Laktik asit üretimleri belirlenen 85 adet izolattan sütü koagüle etme ve laktik asit üretme özelliği en yüksek olan 49 adet izolat seçilerek asetaldehit üretimleri belirlenmiştir.

Seçilen kültürlerin tek başına pH'yı hızlı düşürme yetenekleri zayıf olduğu için, ortama azot kaynağı sağlayarak, pH düşüşünü hızlandırmak ve bu sayede inkübasyon süresini kısaltmak amacıyla, hazırlanan sütlere % 1 oranında maya ekstraktı ilave edilmiştir. Aktifleştirilmiş olan kültürler steril % 1 oranında maya ekstraktı içeren süte inoküle edilerek 20 saat süre ile 42°C'de inkübe edilmiştir. İzolaların asetaldehit üretimi NAD<sup>+</sup>'nin NADH'ye enzimatik indirgenmesini baz alan bir asetaldehit belirleme kiti (Boehringer Mannheim, R-Biopharm AG, Darmstadt, Almanya) kullanılarak spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Asetaldehit ortamda aldehit dehidrogenaz (Al-DH) ve nikotinamid adenin dinükleotit (NAD<sup>+</sup>) varlığında oksitlenerek asetik aside dönüşür (Formül 3.1). NAD<sup>+</sup>'nin indirgenmesi ile oluşan NADH'nin miktarı ise asetaldehit miktarına eşittir. Bu nedenle NADH'nin spektrofotometrik olarak absorbansının belirlenmesi ile ortamda bulunan asetaldehit miktarı tespit edilebilir.



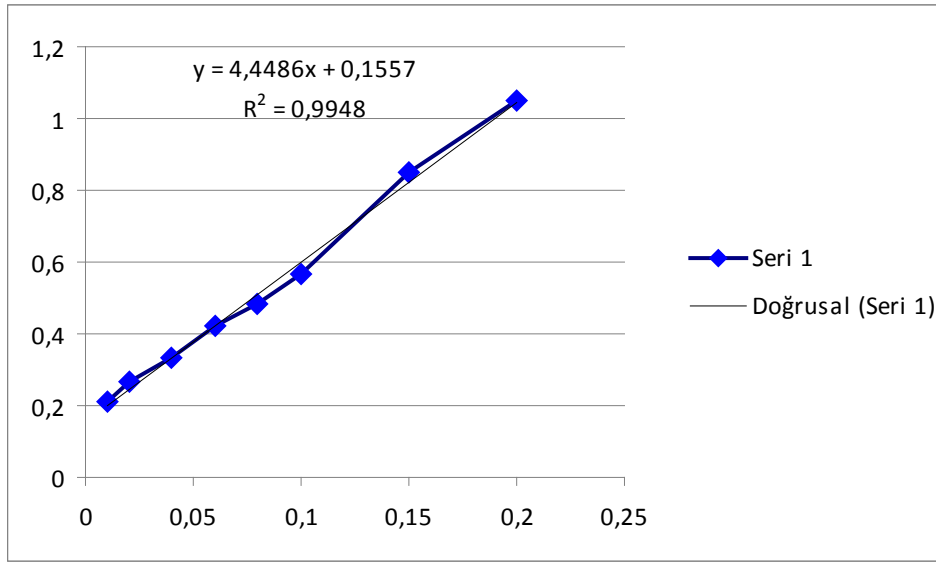
Çalışmada asetaldehit üretimleri incelenen bakteri gruplarının 0,002 mg/ml ile 0,023 mg/ml arasında değişen oranlarda asetaldehit üretimine sahip oldukları belirlenmiştir. Lj grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin 0,002-0,019 mg/ml, Lr grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin 0,004-0,023 mg/ml, Lc grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin 0,010-0,022 mg/ml, La grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin ise 0,004-0,016 mg/ml arasında değişen oranlarda asetaldehit ürettikleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.2.** İzolatların asetaldehit üretimi (mg/ml).

Bakteri no La	Asetaldehit (mg/ml)	Bakteri no Lc	Asetaldehit (mg/ml)	Bakteri no Lj	Asetaldehit (mg/ml)	Bakteri no Lr	Asetaldehit (mg/ml)
4B	0,013	3A	0,019	63	0,008	45	0,012
7F	0,011	4A	0,022	14A	0,002	12A	0,007
12B	0,011	12A	0,017	15A	0,011	15A	0,011
13B	0,016	12B	0,017	15C	0,016	16A	0,011
16C	0,013	14C	0,010	21C	0,013	26A	0,023
18B	0,009	20A	0,010	22A	0,019	31A	0,004
20B	0,015	22A	0,011	25A	0,010		
22A	0,015	23B	0,014	25B	0,014		
22B	0,009	24A	0,014	27C	0,011		
22C	0,012	24C	0,021	31E	0,010		
27A	0,006	26C	0,012	38C	0,002		
27B	0,004	29B	0,021	311-2	0,004		
27C	0,010	35B	0,010				
29B	0,016	37C	0,016				
31A	0,004						
36A	0,005						
37B	0,012						

### 3.2.4. İzolatların Proteolitik Aktivite Tayini

Proteolitik aktivite üründe asitlik gelişimi ile yapı üzerinde etkili olan, oluşan serbest aminoasitlerle tat oluşumunda rol oynayan ve başlatıcı kültürlerin sahip olması istenilen önemli bir özelliktir. Bu amaçla çalışmada izolatların proteolitik aktivite tayini için Hull (1947) metodu modifiye edilerek kullanılmış ve örneklerin proteolitik aktivitesi Şekil 3.3’de verilen standart tirozin kurvesi kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.3. Standart tirozin kurvesi.

Çizilen kalibrasyon eğrisinin regresyon katsayısı ( $R^2$ ) % 99,5 olup, aşağıdaki denklem elde edilmiştir.

$$Y = 4,4486x + 0,1557$$

X = Tirozin miktarı mg/ml

Y = Absorbans değeri

Elde edilen sonuçlara göre izolatların proteolitik aktivitesi genel olarak 0,10 ile 0,27 mg/ml arasında değişen miktarlarda belirlenirken, Lj besiyerinden izole edilen

bakterilerden bir tanesinde, belirtilen bu aralıklardan daha düşük proteolitik aktivite saptanmıştır.

**Çizelge 3.3.** İzolatların proteolitik aktivitesi (mg tirozin/ml).

<b>Bakteri no</b>	<b>Tirozin (mg/ml)</b>	<b>Bakteri no</b>	<b>Tirozin (mg/ml)</b>	<b>Bakteri no</b>	<b>Tirozin (mg/ml)</b>	<b>Bakteri no</b>	<b>Tirozin (mg/ml)</b>
<b>La</b>		<b>Lc</b>		<b>Lj</b>		<b>Lr</b>	
<b>4B</b>	0,23±0,00	<b>3A</b>	0,18±0,05	<b>63</b>	0,13±0,07	<b>45</b>	0,18±0,05
<b>7F</b>	0,19±0,01	<b>4A</b>	0,15±0,02	<b>14A</b>	0,26±0,16	<b>12A</b>	0,27±0,11
<b>12B</b>	0,14±0,07	<b>12A</b>	0,14±0,00	<b>15A</b>	0,15±0,03	<b>15A</b>	0,20±0,02
<b>13B</b>	0,16±0,02	<b>12B</b>	0,25±0,06	<b>15C</b>	0,20±0,01	<b>16A</b>	0,14±0,05
<b>16C</b>	0,24±0,19	<b>14C</b>	0,16±0,10	<b>21C</b>	0,27±0,15	<b>26A</b>	0,18±0,03
<b>18B</b>	0,17±0,02	<b>20A</b>	0,21±0,02	<b>22A</b>	0,21±0,02	<b>31A</b>	0,10±0,01
<b>20B</b>	0,17±0,01	<b>22A</b>	0,22±0,08	<b>25A</b>	0,12±0,03		
<b>22A</b>	0,22±0,02	<b>23B</b>	0,18±0,05	<b>25B</b>	0,11±0,00		
<b>22B</b>	0,24±0,05	<b>24A</b>	0,16±0,01	<b>27C</b>	0,17±0,03		
<b>22C</b>	0,23±0,10	<b>24C</b>	0,17±0,03	<b>31E</b>	0,10±0,05		
<b>27A</b>	0,15±0,01	<b>26C</b>	0,14±0,01	<b>38C</b>	0,09±0,02		
<b>27B</b>	0,12±0,02	<b>29B</b>	0,17±0,00	<b>311-2</b>	0,22±0,11		
<b>27C</b>	0,25±0,11	<b>35B</b>	0,13±0,08				
<b>29B</b>	0,15±0,05	<b>37C</b>	0,22±0,08				
<b>31A</b>	0,15±0,04						
<b>36A</b>	0,14±0,01						
<b>37B</b>	0,11±0,01						

### 3.2.5. İzolatların EPS Üretimi

Fermente süt ürünlerinin tekstürel ve reolojik özellikleri üzerinde etkili olan EPS'ler, aynı zamanda mikroorganizmayı ozmotik stres ve kuruma gibi çeşitli olumsuz

çevre koşullarına karşı korumaktadır. Diğer taraftan yapılan pek çok çalışma ile EPS'lerin sağlık üzerine olumlu etkiler yarattığı kanıtlanmıştır. Bu nedenle üründe yarattığı teknolojik özelliklerle, üründe kullanılan yararlı mikroorganizmaları teşvik özelliği yanı sıra tüketici sağlığında yarattığı olumlu etkilerle EPS'ler önemli bir yere sahiptir.

Çalışmada seçilmiş izolatların EPS üretimi 30 g/l olacak şekilde glikoz içeren MRS sıvı besiyeri kullanılarak belirlenmiştir. En düşük EPS üretimi 0,08 mg/ml ile Lj 25B, en yüksek EPS üretimi ise 0,54 mg/ml ile Lj 38C izolatında tespit edilmiştir.

**Çizelge 3.4.** İzolatların EPS üretimi (mg/ml).

<b>Bakteri no</b>	<b>EPS (mg/ml)</b>	<b>Bakteri no</b>	<b>EPS (mg/ml)</b>	<b>Bakteri no</b>	<b>EPS (mg/ml)</b>	<b>Bakteri no</b>	<b>EPS (mg/ml)</b>
<b>La</b>		<b>Lc</b>		<b>Lj</b>		<b>Lr</b>	
<b>4B</b>	0,31±0,04	<b>3A</b>	0,34±0,00	<b>63</b>	0,19±0,06	<b>45</b>	0,21±0,01
<b>7F</b>	0,14±0,06	<b>4A</b>	0,14±0,03	<b>14A</b>	0,26±0,04	<b>12A</b>	0,33±0,03
<b>12B</b>	0,17±0,06	<b>12A</b>	0,19±0,01	<b>15A</b>	0,17±0,01	<b>15A</b>	0,20±0,00
<b>13B</b>	0,10±0,01	<b>12B</b>	0,13±0,03	<b>15C</b>	0,19±0,04	<b>16A</b>	0,34±0,01
<b>16C</b>	0,11±0,04	<b>14C</b>	0,33±0,04	<b>21C</b>	0,28±0,06	<b>26A</b>	0,30±0,01
<b>18B</b>	0,33±0,05	<b>20A</b>	0,26±0,01	<b>22A</b>	0,30±0,06	<b>31A</b>	0,17±0,04
<b>20B</b>	0,19±0,05	<b>22A</b>	0,23±0,04	<b>25A</b>	0,18±0,04		
<b>22A</b>	0,16±0,00	<b>23B</b>	0,25±0,01	<b>25B</b>	0,08±0,01		
<b>22B</b>	0,34±0,01	<b>24A</b>	0,15±0,04	<b>27C</b>	0,17±0,03		
<b>22C</b>	0,21±0,04	<b>24C</b>	0,12±0,04	<b>31E</b>	0,25±0,01		
<b>27A</b>	0,23±0,04	<b>26C</b>	0,17±0,01	<b>38C</b>	0,54±0,06		
<b>27B</b>	0,12±0,06	<b>29B</b>	0,28±0,01	311-2	0,20±0,01		
<b>27C</b>	0,33±0,03	<b>35B</b>	0,24±0,03				
<b>29B</b>	0,24±0,01	<b>37C</b>	0,40±0,04				
<b>31A</b>	0,30±0,01						
<b>36A</b>	0,19±0,08						
<b>37B</b>	0,24±0,03						



### **3.3. Yoğurt İzolatlarının Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi**

#### **3.3.1. Yapay Mide Suyunda Canlılığın Belirlenmesi**

Probiyotik mikroorganizmaların vücutta canlılıklarını koruyabilmeleri ve bu sayede kalın bağırsakta koloni oluşturup yararlı etkiler meydana getirmelerinin ilk şartı, pH'sı 1,5-3,0 arasında değişen mide ortamında canlı kalabilmeleridir. Bu amaçla elde edilen 49 izolatin pH'sı 3,5 olan yapay mide suyu ortamında 120 dakika boyunca canlılıkları incelenmiştir.

Araştırmamızda incelenen 49 izolattan La7F, La12B ve La13B olmak üzere 3 tanesi deneme başlangıcında canlılıklarını kaybetmişlerdir. pH'sı 3,5 olan yapay mide suyu ortamında Lc12B izolatu deneme başlangıcında 5,85 log<sub>10</sub> KOB/ml düzeyinde iken denemenin 120. dakikasında 6,74 log<sub>10</sub> KOB/ml düzeyinde canlılığa ulaşmış, La27B izolatu deneme başlangıcında 6,52 log<sub>10</sub> KOB/ml düzeyinde iken denemenin 120. dakikasında 7,60 log<sub>10</sub> KOB/ml düzeyinde canlılığa ulaşarak 120 dakika boyunca canlılığında artış gözlenen suşlar olmuşlardır. La4B, La22C, Lj21C ve Lj311-2 suşlarının 120 dakika süresince canlılıklarında istatistik olarak önemli bir değişim olmamıştır. pH'sı 3,5 olan yapay mide suyu ortamında canlılıkları incelenen diğer 40 izolatin ise 120 dakika boyunca canlılıklarında istatistik olarak önemli azalmalar olduğu ancak 2 saat boyunca canlılıklarını koruyabildikleri tespit edilmiştir. 2 saat boyunca La grubuna ait izolatların canlılığında 0,22- 3,13 logaritmik birim, Lc grubuna ait izolatların canlılığında 0,67- 3,39 logaritmik birim, Lj grubuna ait izolatların canlılığında 0,32- 2,57 logaritmik birim ve Lr grubuna ait izolatların canlılığında ise 0,81- 2,52 logaritmik birim arasında değişen oranlarda azalma olduğu tespit edilmiştir. İzolatların yapay mide suyu ortamında 120 dakika boyunca canlılıklarında meydana gelen değişim Ek-9'da verilmiştir.

#### **3.3.2. % 0,4 Fenol Toleransının Belirlenmesi**

Fenol toleransı incelenen 49 adet izolattan 25 tanesi % 0,4 fenol içeren MRS broth içerisinde 24 saate kadar canlı kalabilmiştir. % 0,4 fenol içeren MRS sıvı besiyeri içerisinde başlangıçta 5-6 log<sub>10</sub> KOB/ml olarak belirlenen hücre sayısının inkübasyonun

24. saatinde önemli derecede düştüğü gözlenirken, Lj31E izolatında inkübasyonun başlangıç ve 24. saatinde önemli bir değişimin olmadığı, Lr31A izolatında ise 24. saatte başlangıca göre istatistik olarak önemli bir artışın olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan % 0,4 oranında fenol içeren MRS sıvı besiyerinde inkübasyonun 24. saatinde gelişme gösteren izolatların sayım sonuçlarının 2,70-5,52 log<sub>10</sub> KOB/ml arasında değiştiği gözlenmiştir. Fenol içermeyen kontrol gruplarında ise inkübasyonun başlangıcında ortalama 5-6 log<sub>10</sub> KOB/ml arasında olan sayım sonuçlarının inkübasyonun 24. saatinde La27C, Lc29B, Lj27C, Lr31A numaralı izolatlarda yaklaşık olarak aynı kaldığı, La27B nolu örnekte inkübasyonun 24. saatinde istatistik olarak önemli derecede azaldığı, diğer izolatlarda ise istatistik olarak önemli artış gösterdiği tespit edilmiştir. İzolatların % 0,4 fenol toleransını gösteren Çizelge Ek-10'da verilmiştir.

### 3.3.3. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Üretimi

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bakteri hücreleri üzerinde güçlü oksitleyici ve hücresel proteinlerin temel yapıları üzerinde tahrip edici etkisi ile antimikrobiyel özellik göstermektedir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin antimikrobiyel etkisi, çoğu enzimin denatürasyonuna neden olan sülfidril gruplarının oksidasyonu ve membran lipidlerinin peroksidasyonu sonucu artan membran geçirgenliği ile sağlanmaktadır (Yang, 2000; Condon, 1987). Diğer taraftan özellikle peroksidaz varlığında diğer bakteri, virüs ve funguslar üzerinde inhibitör veya toksik etki oluşturarak gıdaların raf ömrünün uzamasına katkıda bulunmaktadır (Aymerich ve diğ. 2000). Bakterilerin probiyotik olarak kabul edilebilmesi için gerekli şartlardan birisi de antimikrobiyel etki göstermesidir. Bu anlamda bakterilerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretmesi dolayısıyla antimikrobiyel etki göstermesi probiyotik olarak kabul edilebilmesi için gerekli şartlardan bir tanesidir.

Çalışmada diğer teknolojik özellikleri belirlenerek en iyi özellikleri gösterenlerin seçilmesiyle sayıları 49'a düşürülen izolatların hepsinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi tespit edilmiştir.



**Şekil 3.4.** Rogosa-peroksidaz agarın H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumundan önce ve sonra görüntüsü.

**Çizelge 3.5.** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi belirlenen suşlar.

<b>La</b>	<b>Lc</b>	<b>Lj</b>	<b>Lr</b>
4B	3A	63	45
7F	4A	14A	12A
12B	12A	15A	15A
13B	12B	15C	16A
16C	14C	21C	26A
18B	20A	22A	31A
20B	22A	25A	
22A	23B	25B	
22B	24A	27C	
22C	24C	31E	
27A	26C	38C	
27B	29B	311-2	
27C	35B		
29B	37C		
31A			
36A			
37B			

### 3.3.4. $\beta$ -Galaktozidaz Aktivitesinin Belirlenmesi

B-galaktozidaz süt Őekeri olan laktozun glikoz ve galaktoza parçalanmasını sağlayan enzimdir. Bu özelliği ile ürünlerde laktozun parçalanmasını ve ürünün sindirilebilirliğini arttırmaktadır. Bu durum özellikle laktoz intoleransı bulunan kişiler için bir avantaj niteliğindedir. Bu amaca yönelik olarak ürünlerde kullanılan kültürlerin  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesine sahip olması istenmektedir.

Çalışmamızda seçilmiş olan izolatların  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi Miller (1972) metodu kullanılarak belirlenmiştir. Test edilen izolatlardan Lr31A ve Lj31E'de  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi tespit edilemezken, diğer izolatlarda 2,40 ile 517,32 nmol/dakika/OD650/ml aralığında değişen  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi tespit edilmiştir. La grubu bakterilerde 5,13- 517,32; Lc grubu bakterilerde 56,09-248,27; Lj grubu bakterilerde 2,40-126,14; Lr grubu bakterilerde ise 146,14-181,72 nmol/dakika/OD650/ml aralığında değişen  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde genel olarak Lr grubu izolatların diğerlerine göre daha yüksek miktarlarda  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi olduğu gözlenmiştir.

**Çizelge 3.6.** İzolatların  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi (nmol/dakika/OD650/ml).

<b>Bakteri no</b>	<b>Aktivite</b>	<b>Bakteri no</b>	<b>Aktivite</b>	<b>Bakteri no</b>	<b>Aktivite</b>	<b>Bakteri no</b>	<b>Aktivite</b>
<b>La</b>		<b>Lc</b>		<b>Lj</b>		<b>Lr</b>	
<b>4B</b>	177,83	<b>3A</b>	211,74	<b>63</b>	51,13	<b>45</b>	151,97
<b>7F</b>	123,18	<b>4A</b>	146,39	<b>14A</b>	51,35	<b>12A</b>	181,68
<b>12B</b>	126,18	<b>12A</b>	123,18	<b>15A</b>	25,77	<b>15A</b>	154,82
<b>13B</b>	5,13	<b>12B</b>	104,75	<b>15C</b>	60,88	<b>16A</b>	146,14
<b>16C</b>	75,13	<b>14C</b>	234,99	<b>21C</b>	83,78	<b>26A</b>	181,72
<b>18B</b>	70,56	<b>20A</b>	185,23	<b>22A</b>	92,94	<b>31A</b>	-
<b>20B</b>	134,85	<b>22A</b>	152,25	<b>25A</b>	106,46		
<b>22A</b>	79,03	<b>23B</b>	161,27	<b>25B</b>	99,88		
<b>22B</b>	86,33	<b>24A</b>	111,74	<b>27C</b>	126,14		
<b>22C</b>	86,20	<b>24C</b>	132,88	<b>31E</b>	-		

Çizelge 3.6 devam. İzolatların β-galaktozidaz aktivitesi (nmol/dakika/OD650/ml).

Bakteri no La	Aktivite	Bakteri no Lc	Aktivite	Bakteri no Lj	Aktivite	Bakteri no Lr	Aktivite
27A	33,57	26C	56,09	38C	2,40		
27B	60,58	29B	186,32	311-2	87,42		
27C	138,10	35B	144,72				
29B	517,32	37C	248,27				
31A	180,46						
36A	186,25						
37B	11,13						

### 3.4. Yoğurt Analizleri

#### 3.4.1. Yoğurtların Mikrobiyolojik Analizleri

Yoğurtların depolama süresince mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişim Çizelge 3.7’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.7. Depolama süresi boyunca yoğurtların mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişim ( $\log_{10}$  KOB/g). \*

Bakteri grubu	Yoğurt grupları	1. gün	7. gün	14. gün	21. gün
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	K	7,45±0,44 <sup>Ba</sup>	7,62±0,33 <sup>Ba</sup>	7,42±0,29 <sup>Ba</sup>	7,46±0,13 <sup>Ba</sup>
	D	8,51±0,27 <sup>Aa</sup>	8,48±0,33 <sup>Aa</sup>	8,25±0,46 <sup>Aa</sup>	8,10±0,03 <sup>Aa</sup>
<i>Str. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>	K	8,39±0,13 <sup>Aa</sup>	8,46±0,24 <sup>Aa</sup>	8,53±0,11 <sup>Aa</sup>	8,33±0,06 <sup>Aa</sup>
	D	8,17±0,08 <sup>Ba</sup>	8,07±0,16 <sup>Ba</sup>	8,13±0,08 <sup>Ba</sup>	8,33±0,59 <sup>Aa</sup>
<i>L. casei</i>	K	8,00±0,49 <sup>Aa</sup>	7,59±0,39 <sup>Ba</sup>	7,30±0,40 <sup>Ba</sup>	7,26±0,28 <sup>Ba</sup>
	D	8,47±0,18 <sup>Aa</sup>	8,70±0,11 <sup>Aa</sup>	8,12±0,23 <sup>Ab</sup>	8,07±0,03 <sup>Ab</sup>

**Çizelge 3.7 devam.** Depolama süresi boyunca yoğurtların mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişim ( $\log_{10}$  KOB/g). \*

Bakteri grubu	Yoğurt grupları	1. gün	7. gün	14. gün	21. gün
<i>L. rhamnosus</i>	K	7,26±0,20 <sup>Aa</sup>	7,45±0,26 <sup>Aa</sup>	6,98±0,06 <sup>Aab</sup>	6,68±0,43 <sup>Ab</sup>
	D	6,82±0,34 <sup>Aa</sup>	6,63±0,64 <sup>Aa</sup>	6,27±0,47 <sup>Ba</sup>	6,56±0,28 <sup>Aa</sup>
LAB	K	7,60±0,22 <sup>Ba</sup>	7,62±0,18 <sup>Ba</sup>	7,43±0,36 <sup>Aa</sup>	7,83±0,35 <sup>Aa</sup>
	D	8,33±0,17 <sup>Aa</sup>	8,49±0,35 <sup>Aa</sup>	8,14±0,69 <sup>Aa</sup>	8,14±0,10 <sup>Aa</sup>
TMAB	K	8,15±0,03 <sup>Ba</sup>	8,07±0,09 <sup>Bab</sup>	7,92±0,09 <sup>Bbc</sup>	7,87±0,11 <sup>Ac</sup>
	D	8,53±0,23 <sup>Aa</sup>	8,42±0,27 <sup>Aab</sup>	8,09±0,08 <sup>Abc</sup>	7,82±0,06 <sup>Ac</sup>

\*Bakteri gruplarına ait sütunlar arası fark; farklı büyük harflerle, bakteri gruplarına ait satırlar arası farklar ise farklı küçük harflerle gösterilmiştir ( $p<0,05$ ).

Depolamanın 1. ve 21. günlerinde *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının K grubu yoğurtlarda 7,45-7,46  $\log_{10}$  KOB/g; D grubu yoğurtlarda ise 8,51-8,10  $\log_{10}$  KOB/g düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca D grubu yoğurtların *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının K grubu yoğurtlardan istatistik olarak önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Depolama süresi boyunca *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakteri sayısında ise K grubunda istatistik olarak önemli bir değişimin olmadığı, D grubunun bakteri sayısında azalma tespit edilmiş, ancak bu azalışın da istatistik olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ).

Depolamanın 1. gününde K ve D gruplarında *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* sayısının sırasıyla 8,39-8,17  $\log_{10}$  KOB/g olduğu gözlenirken, depolamanın 21. gününde ise her iki grupta da 8,33  $\log_{10}$  KOB/g olarak tespit edilmiştir. Depolamanın 1., 7., 14. günlerinde K grubunda tespit edilen *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* sayısının D grubundan istatistik olarak önemli düzeyde yüksek olduğu, ancak 21. günde iki grup arasında herhangi bir fark olmadığı gözlenmiştir. Grupların kendi içerisinde depolama süresince gözlenen değişimin ise istatistik olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ).

D grubu yoğurtlarda *L. casei* sayısının depolama süresi boyunca K grubundan istatistik olarak önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. K grubunda

depolamanın 1. günü gözlenen 8 log<sub>10</sub> KOB/g sayının 21. günde 0,74 birim azalarak 7,26 log<sub>10</sub> KOB/g olduğu, ancak bu azalışın istatistik olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. D grubunda ise *L. casei* sayısında depolamanın ilk 7 gününde önemli bir değişim olmazken, 14 ve 21. günde *L. casei* sayısının istatistik olarak önemli düzeyde azaldığı gözlenmiştir. Ancak gözlenen bu azalışa rağmen 21. günde D grubunda gözlenen bakteri sayısı 8,07 log<sub>10</sub> KOB/g olarak tespit edilmiştir.

Depolama süresi boyunca grupların *L. rhamnosus* sayısının ortalama 6-7 log<sub>10</sub> KOB/g düzeyinde olduğu, D grubunda depolama süresi boyunca önemli bir değişim gözlenmezken, K grubunun *L. rhamnosus* sayısının 14 ve 21. günlerde istatistik olarak önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir.

Sadece işletme kültürü ile üretilen K grubunun depolamanın 1. gününde toplam LAB sayısının 7,60 log<sub>10</sub> KOB/g, % 1 işletme kültürü ve deneme kültür kombinasyonu ile üretilen D grubunun ise 8,33 log<sub>10</sub> KOB/g olduğu gözlenmiştir. Depolamanın 1. ve 7. günlerinde D grubunun bakteri sayısının K grubundan istatistik olarak önemli düzeyde yüksek olduğu, ancak 14 ve 21. günlerde bu farkın ortadan kalktığı gözlenmiştir. Depolama süresi boyunca her iki grubun da toplam LAB sayısında önemli bir fark tespit edilmemiştir.

TMAB sayısının depolamanın 14. gününe kadar D grubunda K grubuna göre istatistik olarak önemli düzeyde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,05). K ve D gruplarında TMAB sayısının depolama süresi boyunca istatistik olarak önemli düzeyde azaldığı gözlemlenmiştir. K grubunda TMAB sayısı depolamanın 1. gününde 8,15 log<sub>10</sub> KOB/g iken 21. günde 7,78 log<sub>10</sub> KOB/g olarak; D grubunda ise 8,53 log<sub>10</sub> KOB/g düzeyinden 7,82 log<sub>10</sub> KOB/g düzeyine düştüğü belirlenmiştir. Depolama süresince yoğurtlarda koliform grubu bakteri tespit edilmemiş, maya küf sayısının da 10<sup>1</sup> KOB/g'dan düşük olduğu belirlenmiştir.

### **3.4.2. Yoğurtların Fizikokimyasal Analizleri**

#### **3.4.2.1. Kuru Madde Miktarı**

Çalışmamızda yoğurt üretiminde kullanılan pastörize keçi sütünün % 12 kuru madde miktarına sahip olduğu belirlenmiştir. Üretilen kontrol grubu yoğurtlarda

depolamanın 1. gününde kuru madde içeriği % 11,89; deneme grubu yoğurtlarda ise % 11,82 olarak tespit edilmiştir. Çizelge 3.8’de de belirtildiği gibi 21 günlük depolama süresi boyunca her iki grup yoğurdun da kuru madde içeriğinde istatistik olarak önemli bir değişim gözlenmezken, kontrol ve deneme grubu arasında da herhangi bir fark tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ).

**Çizelge 3.8.** Yoğurtların depolama süresince kuru madde miktarında meydana gelen değişim (%).

<b>Grup/Gün</b>	<b>1. Gün</b>	<b>7. Gün</b>	<b>14. Gün</b>	<b>21. Gün</b>
K	11,8917±0,45	12,1643±0,30	11,8413±0,24	11,9782±0,44
D	11,8209±0,45	11,9842±0,18	11,7073±0,17	12,0046±0,39

#### **3.4.2.2. Yağ Miktarı**

Üretilen yoğurtlarda depolamanın 1. gününde kontrol grubunun % 3,2; deneme grubunun ise % 3,18 yağ miktarına sahip olduğu belirlenirken, depolamanın 21. gününde bu gruplarda yağ miktarları sırasıyla % 3,23 ve % 3,18 olarak tespit edilmiştir. Depolama süresince yoğurtların yağ içeriğinde gruplar arası istatistik olarak önemli bir farkın olmadığı, depolamanın da yağ içeriği üzerine etkisi olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ). Depolama süresi boyunca yoğurtların yağ miktarlarında meydana gelen değişim Çizelge 3.9’da verilmiştir.

**Çizelge 3.9.** Yoğurtların depolama süresince yağ miktarında meydana gelen değişim (%).

<b>Grup/Gün</b>	<b>1. Gün</b>	<b>7. Gün</b>	<b>14. Gün</b>	<b>21. Gün</b>
K	3,2±0,0	3,20±0,00	3,18±0,05	3,23±0,21
D	3,18±0,05	3,30±0,12	3,20±0,00	3,18±0,05



### 3.4.2.3. Titre Edilebilir Asitlik

Depolamanın 1. gününde K grubunun laktik asit miktarı % 1,01; D grubunun asitliği ise % 0,99 olarak tespit edilmiştir. Depolamanın 7. ve 14. günlerinde sadece işletme kültürü ile üretilen K grubunda titrasyon asitliğinin azaldığı, 21. günde ise bir miktar arttığı gözlenmiştir. K grubunda depolama süresi boyunca gözlenen bu değişimin istatistik olarak önemli olduğu ( $p<0,05$ ), ancak D grubunda depolama süresi boyunca istatistik olarak önemli bir değişimin olmadığı gözlenmiştir. Depolamanın 1. gününde her iki grubun laktik asit miktarlarının birbirine çok yakın olduğu, depolamanın 21. gününde de asitlik değerleri arasında istatistik olarak önemli bir fark olmadığı gözlenmiştir ( $p>0,05$ ). Depolama süresi boyunca yoğurtların asitlik miktarlarında meydana gelen değişim Çizelge 3.10'da verilmiştir.

**Çizelge 3.10.** Yoğurtların depolama süresince asitliğinde meydana gelen değişim (% laktik asit -°SH)\*.

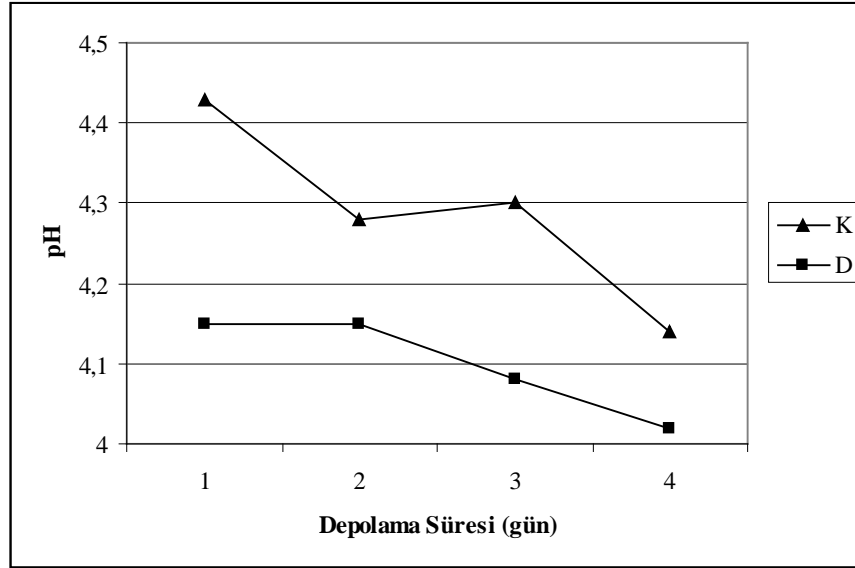
Grup/Gün		1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün
K	% Laktik asit	1,01±0,00 <sup>Aa</sup>	0,86±0,00 <sup>Bb</sup>	0,87±0,07 <sup>Bb</sup>	0,93±0,05 <sup>Aab</sup>
	°SH	45,00	38,00	38,75	41,25
D	% Laktik asit	0,99±0,00 <sup>Aa</sup>	1,09±0,05 <sup>Aa</sup>	1,09±0,01 <sup>Aa</sup>	1,05±0,14 <sup>Aa</sup>
	°SH	44,00	48,25	48,25	46,5

\*Yoğurt gruplarına ait sütunlar arası fark; farklı büyük harflerle, yoğurt gruplarına ait satırlar arası farklar ise farklı küçük harflerle gösterilmiştir ( $p<0,05$ ).

### 3.4.2.4. pH

Yoğurt üretimi sırasında kontrol grubuna ticari kültür inokülasyonu yapıldıktan sonra 42 °C'de inkübasyon sırasında pH'nın 4,5'e 3 saatte (180 dk) düştüğü gözlenirken, deneme grubunda bu süre 165 dk olarak belirlenmiştir. Deneme grubuna ilave edilen deneme kültür kombinasyonu sayesinde daha hızlı bir pH düşüşü

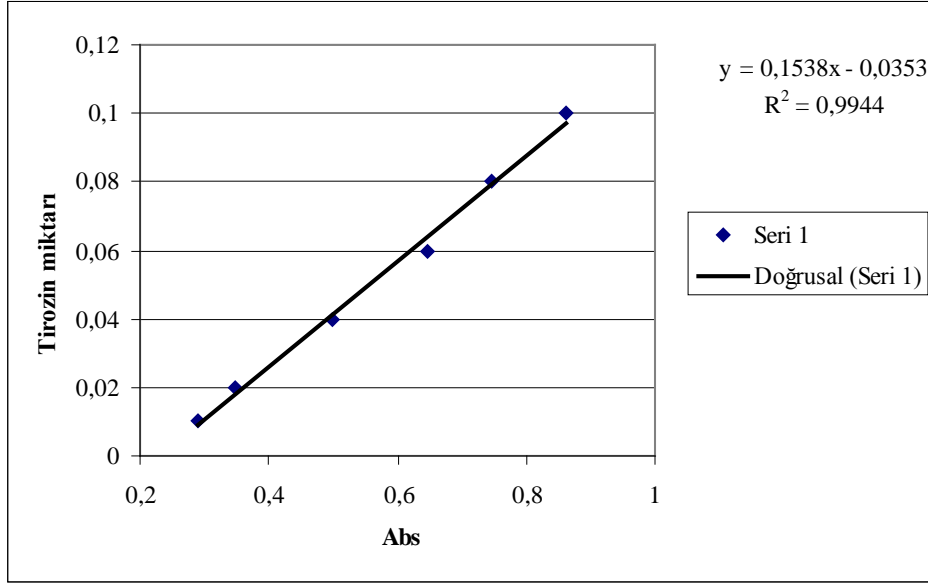
gözlenmiştir. Depolamanın 1. gününde kontrol ve deneme grupları yoğurtların pH'ları sırasıyla 4,43 ve 4,15 olarak belirlenmiş ve yoğurt üretimi sonrasında pH 4,5 iken fermantasyonu sonlandırılan yoğurt örneklerinin pH'sında 4 °C'de 1 günlük depolama sonrasında 0,07 ve 0,35 birim azalma olduğu gözlenmiştir. Depolamanın 21. gününde kontrol grubunun pH'sı 4,14; deneme grubunun pH'sı ise 4,02 olarak ölçülmüştür. Depolama süresi boyunca her iki grubun da pH'larının düştüğü, ancak bu düşüşün istatistik olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ). Depolama süresince yoğurtların pH değerlerinde meydana gelen değişim şekil 3.5'de verilmiştir.



Şekil 3.5. Depolama süresince yoğurtların pH değişimi.

#### 3.4.2.5. Proteoliz

Proteolitik enzimlerle proteinlerin parçalanması sonucu yoğurtlarda gözlenen proteoliz istenilen tat ve aromanın oluşmasını sağlarken, fazla miktarda gözlenen proteoliz üründe istenmeyen acı tadın ortaya çıkmasına neden olur. Çalışmamızda çizilen standart tirozin kurvesi kullanılarak yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca tirozin miktarları hesaplanmıştır.



Şekil 3.6. Tirozin standart kurvesi.

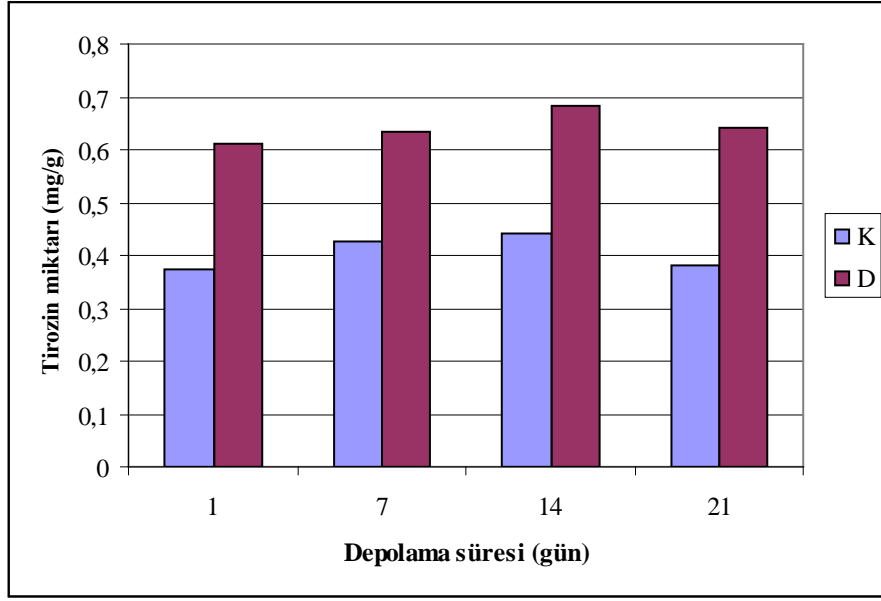
Çizilen standart tirozin kurvesinden ;

$Y = 0,1538 X - 0,0353$  denklemi elde edilmiş olup, denklemde;

$Y =$  Tirozin miktarı (mg/g)

$X =$  Absorbans değerlerini göstermektedir.

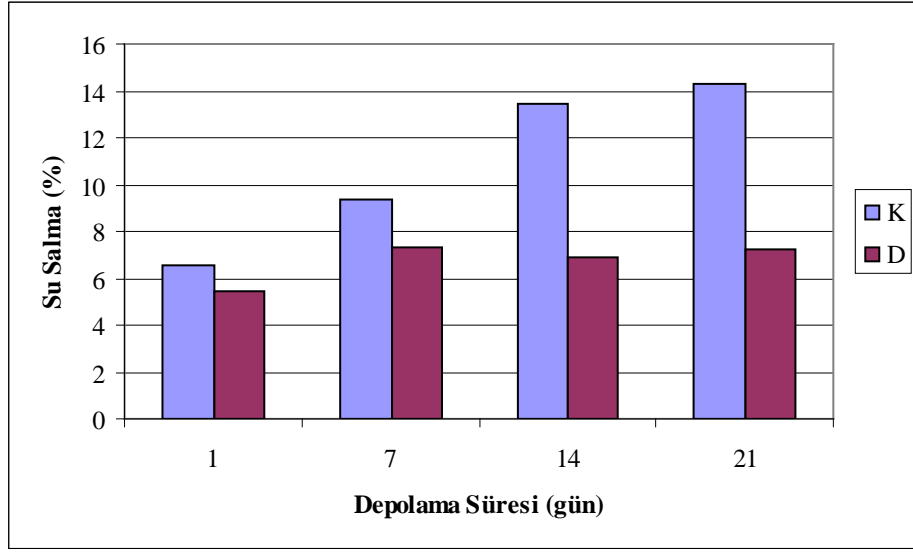
Depolamanın 1. gününde tirozin miktarı K grubunda 0,373 mg/g olarak belirlenirken, D grubunda ise 0,613 mg/g olarak tespit edilmiştir. 21. günlük depolama süresi boyunca D grubunun tirozin miktarının K grubundan istatistik olarak önemli derecede yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Depolama süresi boyunca K ve D gruplarında günler arası tirozin miktarlarında gözlenen değişiklik ise istatistik olarak önemli bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Depolama süresi boyunca K ve D gruplarının tirozin miktarlarında gözlenen değişiklik Şekil 3.7’de belirtilmiştir.



Şekil 3.7. Yoğurtların depolama süresince tirozin miktarında meydana gelen değişim (mg/g).

#### 3.4.2.6. Su Salma

Yoğurt örneklerinin su salma özellikleri değerlendirildiğinde depolamanın 1. gününde su salma oranının deneme grubunda % 5,45 ile % 6,42 oranında su salma miktarına sahip kontrol grubundan daha düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca her iki grubun su salma miktarlarında artış gözlenmiş, en yüksek su salma miktarı % 14,31 ile depolamanın 21. gününde kontrol grubunda belirlenirken, D grubunun depolamanın 21. günündeki su salma miktarı % 7,27 olarak belirlenmiştir. Depolama süresi boyunca su salma miktarlarında görülen bu artış istatistik olarak önemli bulunmamış ( $p>0,05$ ) ve deneme grubunun su salma miktarı depolama süresi boyunca kontrol grubundan daha düşük seviyede kalmıştır. Depolama süresi boyunca yoğurtların su salma miktarlarında meydana gelen değişim Şekil 3.8’de veilmiştir.



Şekil 3.8. Depolama süresince yoğurtların su salma miktarlarında meydana gelen değişim.

### 3.4.3. Duyusal Değerlendirme

Bir ürünün duyusal özellikleri tüketici tercihleri açısından büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda üretilen K ve D grubu yoğurtlar görünüş, kıvam, koku ve tat özellikleri bakımından değerlendirilmiş, bu özelliklerde depolama süresince meydana gelen değişiklikler Ek-11’de verilmiştir.

Depolamanın 1. gününde görünüş ve kıvam bakımından K grubu daha yüksek puanlar alırken; D grubu koku ve tat bakımından daha çok beğenilmiş, ancak puanlamada gözlenen bu değişiklikler istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Depolamanın 14. gününde gruplar görünüş, kıvam ve koku bakımından benzer puanlar almış, ancak D grubunun tat bakımından istatistik olarak önemli derecede düşük puan aldığı tespit edilmiştir. Depolamanın 21. gününde gruplar arasında istatistik olarak önemli bir fark gözlenmezken, her iki grupta da tat bakımından istatistik olarak önemli bir düşüş olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 21. gününde görünüş ve kıvam bakımından K grubunda istatistik olarak önemli bir değişim gözlenirken, her iki grupta da 7. günden itibaren koku özelliğinde bir düşüş gözlenmiştir. Tüm bu özellikler değerlendirildiğinde her iki grubun da benzer özellikler gösterdiği, 21. günde D

grubunda acı tadın daha yoğun hissedilmesine rağmen hala kabul edilebilir düzeyde olduğu belirlenmiştir.

## 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

### 4.1. İzolasyon Sonuçları

LAB genel olarak insan ve hayvanların sindirim sistemi ile çoğu fermente gıda ve silajda yaygın olarak bulunurlar. Pek çoğu gelişimleri için vitaminlere ve aminoasitlere ihtiyaç duyar. Bu nedenle genellikle vitamince zengin, maya ekstraktı, domates suyu, peynir altı suyu, süt serumu veya kan içeren kompleks besiyerlerinde daha iyi gelişim gösterirler (Ström, 2005; Yüksakdağ ve Beyatlı, 2003).

Ravula ve Shah (1998) ticari yoğurt ve fermente süt ürünlerinde *L. casei* popülasyonunu belirleyebilmek için çeşitli besiyeri formüllerini denemişlerdir. Çalışmada *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ST WJ7, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB Wj7, *L. acidophilus* LA MJLA1 ve *Bifidobacterium* BB BDBB2, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ST 2008, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB 2501, *L. acidophilus* LA 2415 ve *Bifidobacterium* BB 20099 suşlarını referans olarak kullanmışlar ve MRS besiyeri bazal metabolizmasına salisin ve sorbitol ilave ederek elde ettikleri MRS salisin agar ile MRS sorbitol agarda *L. acidophilus* ve *L. casei* suşlarının  $8 \log_{10}$  KOB/g'dan daha yüksek canlılık gösterdiğini belirtmişlerdir. Ravula ve Shah (1998) tarafından da belirtildiği şekilde çalışmamızda *L. casei* ve *L. acidophilus* grubu bakterilerin izolasyonu için en yüksek canlılık gösterdikleri besiyerleri olan MRS-sorbitol agar ve MRS-salisin agar besiyerleri kullanılmıştır.

Bulut (2003), olgunlaşmış ve olgunlaşmamış peynir örneklerini kullanarak LAB izole etmiştir. İzolasyon sırasında ise LAB için MRS ve M17 agar besiyerleri kullanılmış ve taze peynir ile olgunlaşmış peynirden elde ettiği ortalama sayım sonuçlarını MRS agarda  $9,05-8,027 \log_{10}$  KOB/g; M17 agarda ise  $9,11-7,97 \log_{10}$  KOB/g olarak belirtilmiştir. İzolasyon sonucunda ise 113 kok ve 21 adet laktobasil elde edilmiştir. Tharmaraj ve Shah (2003), *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, bifidobakter ve propiyonik asit bakterilerinin gelişim gösterdikleri en iyi besiyerini belirlemek için 19 farklı besiyeri denemişlerdir. MRS bazal ortamına sorbitol ilave edilmesi ile elde edilen besiyerinde *L. casei* suşlarının yaklaşık olarak  $9 \log_{10}$  KOB/ml düzeyinde geliştiğini, MRS bazal ortamına mannitol ilavesi ile oluşturulan besiyerinde ise *L. rhamnosus*

suşlarının 9 log<sub>10</sub> KOB/ml düzeyinden daha yüksek sayıda gelişim gösterdikleri belirlenmiştir. *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* MRS agar besiyerinde 7,14-8,09 log<sub>10</sub> KOB/ml düzeyinde gelişim gösterirken, MRS bazal ortamına maltoz, galaktoz, sorbitol ve mannitol eklenmesi ile elde edilen ortamlarda 3 log<sub>10</sub> KOB/ml düzeyinden daha düşük seviyede gelişim gösterdiği belirtilmiştir. Benzer şekilde *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* MRS bazal ortamında 8,28 log<sub>10</sub> KOB/ml düzeyinde gelişim gösterirken, diğer ortamlarda 3 log<sub>10</sub> KOB/ml düzeyinden daha düşük seviyede gelişmiştir. *L. acidophilus* suşlarının ise tüm ortamlarda 7-8 log<sub>10</sub> KOB/ml düzeyinde gelişim gösterdiği bildirilmiştir. Tharmaraj ve Shah (2003) tarafından belirtildiği gibi çalışmamızda *L. rhamnosus* izolasyonu için bu bakteri grubunun en yüksek düzeyde gelişim gösterdiği MRS-mannitol besiyeri kullanılmıştır.

Succi ve diğ. (2005) MRS agar besiyeri kullanarak olgunlaşmış Parmigiano Reggiano peynirinden izole ettikleri 63 adet bakteriden 20 adedinin *L. paracasei* subsp. 40 adedinin ise *L. rhamnosus* suşları olduğunu belirtmiştir. Erdoğan ve Erbilir (2006), çeşitli tipte peynir, yoğurt ve tarhana örneklerinden pH'sı 5,7'ye ayarlanmış MRS agar besiyerini kullanarak LAB'ni izole etmiş, çeşitli tanımlama testleri uyguladıkları izolatlardan; peynirden izole edilmiş olan 1 tanesinin *L. casei*; probiyotik yoğurttan izole edilmiş olan 1 tanesinin ise *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* olduğunu belirtmiştir.

Pelinescu ve diğ. (2009), buzağı rumen sıvısı, domuz midesi ve silajdan pH'sı 5,5 ve 6,5'e ayarlanmış MRS agar besiyerini kullanarak 50 adet LAB izole etmişler ve çeşitli tanımlama testleri sonucunda izolatlar arasında *L. plantarum* suşlarının daha baskın olduğunu belirtmişlerdir. Lengkey ve diğ. (2009), çiğ kanatlı etinden MRS agar kullanarak LAB izole etmişler, fizyolojik ve biyokimyasal testler sonucunda 15 izolattan 5 tanesinin *Lc. lactis* subsp. *lactis*, 3 tanesinin *L. lactis* subsp. *lactis*, 2 tanesinin *L. fermentum*, 2 tanesinin *L. paracasei* ve 3 tanesinin ise *L. rhamnosus* olduğunu bildirmişlerdir. Abdullah ve Osman (2010) tarafından 20 adet çiğ süt, beyaz peynir ve Sudan'a özgü fermente bir süt ürünü olan Rob kullanılarak MRS agardan, toplamda 52 adet LAB izole edilmiştir. İzolatların laktokok, laktobasil ve pediokok cinslerinden oluştuğu, ancak laktobasillerin % 69,23'lük bir pay ile daha fazla sayıda olduğu belirtilmiştir.

Çalışmamızda diğer araştırmacılar tarafından belirtilen; bakteri gruplarının gelişimi için en uygun besiyeri ortamları seçilmiş ve yoğurt örneğinden Lj grubuna



özgü besiyerinden 95 adet, Lc grubuna özgü besiyerinden 83 adet, La grubuna özgü besiyerinden 88 adet, Lr grubuna özgü besiyerinden 65 adet, St grubuna özgü besiyerinden 26 adet ve Lb grubuna özgü besiyerinden 25 adet izolat olmak üzere toplamda 382 adet izolat elde edilmiştir.

## 4.2. Yoğurt İzolatların Başlatıcı Kültür Olma Özelliklerinin Belirlenmesi

### 4.2.1. İzolatların Sütü Koagüle Etmesi

Teknolojik olarak fermente süt ürünlerinde kullanılan kültürlerin, ürünün fermantasyon süresini kısaltması için sütü koagüle etme yeteneğine sahip olması istenmektedir.

Xanthopoulos ve diğ. (2000) tarafından yapılan çalışmada yeni doğan bağırsak sisteminden izole edilen *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. gasseri* ve *L. reuteri* suşları pH'sı 6,65 olan steril rekonstitüe sütte aşılansarak 30, 37 ve 40 °C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiş, asitliğin 37 ve 40 °C'de 30 °C'ye göre daha iyi geliştiği ve suşların çoğunda pH'nın 5,0'dan daha düşük olduğu belirtilmiştir. *L. rhamnosus* suşlarının asitliği diğer laktobasil suşlarına göre daha iyi düşürdüğü (pH 37 °C'de 3,75-3,79; 40 °C'de 3,40-3,51), *L. reuteri* ile *L. gasseri* DC418 ve DC422 suşlarının ise düşük koagülasyon yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir. Bu sonuçlara benzer şekilde çalışmamızda Lr grubu izolatlarına özgül besiyerinden seçilen izolatların aşılansığı ve 42 °C'de 16 saat inkübe edilen rekonstitüe süt pH'sının genel olarak 3,50-4,77 arasında değıştığı gözlenmiştir. Çalışmamızda La grubu izolasyonunda kullanılan besiyerinden elde edilen izolatların ise 3,20-4,96 arasında rekonstitüe süt pH'sını değıştirdiğı ve bu sonuçların Xanthopoulos ve diğ. (2000) tarafından elde edilen 4,30-4,70 arasında değışen sonuçlarla benzerlik gösterdiğı belirlenmiştir.

Hebert ve diğ. (2001) tarafından *L. helveticus* CRL 1062'nin % 2 oranında maya ekstraktı, % 5 kazein ve % 1 sodyum kazeinat içeren rekonstitüe sütü 42 °C'de 16 saatte koagüle ederken, *L. helveticus* S1'in rekonstitüe sütü 42 °C'de 30 saat süre ile koagüle ettiğı belirtilmiştir. *L. helveticus* CRL 1062 suşunun hem rekonstitüe sütü hem de maya ekstraktı ve glikoz eklenmiş olan sütleri koagüle ettiğı bildirilmiştir.

Olasupo ve diğ. (2001), geleneksel Nijerya fermente gıdalarından izole ettikleri LAB'nin sütü 37 °C'de 12-20 saat arasında koagüle ettiğini, 30 °C'de ise 24-36 saatte koagülasyon göstererek daha yavaş koagülasyon yeteneğine sahip olduklarını belirtmiştir. Maragkoudakis ve diğ. (2006) koagülasyon yeteneğini belirlemek için *L. plantarum* ACA-DC 146 ve *L. paracasei* subsp. ACA-DC 4037 suşlarını aşıladıkları sütlerin 6 saatlik inkübasyon sonrasında pH'sını 6,3 olarak belirlemiş, bu kültürlerin yoğurt üretiminde başlatıcı kültür olarak kullanılamayacağını belirtmişlerdir. Çelik (2007), yaptığı araştırmada 72 adet *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolatlarının tamamının sütü koagüle ettiğini, 57 adet *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* izolatından 25 tanesinin 16 saatlik inkübasyon sonrasında sütü koagüle ettiğini, 7 tanesinin hiç koagülasyon yeteneği göstermediğini, diğerlerinin ise iyi koagülasyon yeteneğine sahip olduklarını belirtmiştir. Mısır Ras peyniri (Ayad ve diğ., 2006) ile Yunan peynirinden izole edilen LAB'nin (Asteri ve diğ., 2009) ise zayıf süt asitlendiricileri oldukları belirtilmiştir.

Feta, Graviera ve Kasserli peynirlerinden izole edilmiş laktobasillerin 30 °C'de 6, 16, 24 saat inkübasyon ile koagülasyon yeteneği belirlenmiş, bakterilerin 16 saat sonra pH'yı 0,22-0,64 birim arasında yükselttiği, bu nedenle suşların genel olarak zayıf asitlendirici özellikte olduğu belirtilmiştir (Floros ve diğ., 2012).

Araştırmamızdan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde izolatların 42 °C'de 16 saat inkübasyondan sonra pH'yı yaklaşık olarak 1,6-3,3 birim aralığında düşürebildikleri ve yüksek koagülasyon yeteneğine sahip oldukları belirlenmiştir.

#### **4.2.2. İzolatların Laktik Asit Üretimi**

LAB fermantasyon süresince organizmanın türüne, niteliklerine, gelişme şartlarına bağlı olarak çeşitli organik asitleri üretmekte, bu sayede ürünün tat ve aroması gelişirken aynı zamanda üründe bozulmaya neden olan çeşitli patojen mikroorganizmalar üzerinde de inhibe edici etki meydana gelmektedir (Akpınar ve Başyigit Kılıç, 2012). Özellikle laktik asit, fermantasyon sırasında üretilen, iyonlaşan ve iyonlaşmayan formları ile dengede bulunan (Yang, 2000), fermente süt ürünlerinde istenilen karakteristik aromayı oluşturan ana bileşenlerden birisidir.

Dave ve Shah (1997b) tarafından yürütülen çalışmada *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, *L. acidophilus* ve bifidobakteri içeren farklı ticari kültür kombinasyonları ile yapılan yoğurtlarda laktik asit içeriği başlangıçta 0,05 mg/g iken 0. günde 3,8, 3,7, 2,8 ve 3,9 mg/g olarak belirlenmiş, depolamanın 5. gününde fark edilebilir bir artış gözlenmiştir.

Cezayir’de yapılan bir çalışmada çiğ keçi sütünden izole edilen *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, *L. helveticus*, *L. plantarum*, *L. delbruecki* subsp. *bulgaricus*, *L. brevis*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*’u içeren 725 adet laktik asit bakterisinin % 38,6’sının yüksek asitlendirici yeteneğe sahip olduğu belirtilmiştir (Badis ve diğ., 2004a).

Probiyotik bakterilerle (*L. acidophilus* LAFTI L10, *Bf. lactis* LAFTI B94 ve *L. paracasei* LAFTI) 4,45, 4,50, 4,55, 4,60 farklı son pH’da ve üretilen yoğurtlarda depolamanın 28. gününde laktik asit miktarında artış gözlenmiştir. Depolamanın 1. gününde 13-16 g/l arasında değişen laktik asit miktarının depolamanın 28. gününde 16-18 g/l aralığında değiştiği; 28 günlük depolama süresi boyunca laktik asit miktarının % 16-23 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir (Donkor ve diğ., 2006). *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus* ve *Bf. lactis* kültürlerinin *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ile birlikte % 4 inülin içeren süt ortamında laktik asit üretiminin 1. günde 850-990 mg/100g; 7. günde 95-1030 mg/100g olduğu; inülin içermeyen ortamda ise 1. günde 820-1030 mg/100g; 7. günde 930-1080 mg/100g arasında değiştiği kaydedilmiştir (De Souza Oliveira ve diğ., 2009).

2 farklı başlatıcı kültür ile (*Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ile *L. delbruecki* subsp. *bulgaricus*’dan oluşan karışık ticari yoğurt kültürleri) *L. rhamnosus* ve *L. acidophilus* içeren 2 farklı probiyotik kültürün bezelye proteini, nohut unu, mercimek unu, bezelye lifi, soya protein konsantresi ve soya unu ilave edilmiş süt ortamlarında asitlendirme etkisi incelenmiş, tüm katkıların özellikle probiyotik suşların asitlendirme hızını arttırdıkları ifade edilmiştir (Zare ve diğ., 2012).

Araştırmamızda asit oluşturma yeteneği belirlenen 85 adet izolatin laktik asit üretimlerinin 0,14-0,32 g/100 ml arasında değiştiği gözlenmiştir. Kültürler genel olarak asitlendirici yeteneğe sahip olmakla birlikte, belirlenen laktik asit değerlerinin De Souza Oliveira ve diğ. (2009) tarafından *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* TA040 ile sırasıyla *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB340, *L. acidophilus* LAC4, *L. rhamnosus*

LBA ve *Bf. animalis* subsp. *lactis* BL 04 ikili ticari kültürlerinin rekonstitüe sütte aşılması ile 1. günde gözlenen ve % 4 inülin içeren ortamda artış gösteren 880, 980, 900 ve 840 mg/100g değerlerinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.2.3. İzolatların Asetaldehit Üretimi

Süt ürünlerinin önemli aroma bileşenlerinden olan asetaldehit, özellikle yoğurtta aranan karakteristik aroma bileşenlerinden birisidir. Bakterilerde aminoasit, nükleotit ve püruvat metabolizması ile üretilen asetaldehit (Chaves ve diğ., 2002), yoğurtta özellikle *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* tarafından üretilmektedir (Ott ve diğ., 1999). Asetaldehit üretimi tür ve suşa bağlı olarak farklılık göstermektedir. Asetaldehit üretiminde laktokoklar önemli bir yere sahipken streptokoklar tarafından daha az miktarlarda üretildiği belirtilmektedir (Yüksekdağ ve Beyatlı, 2003). Yoğurtta uygun bir aroma için asetaldehit konsantrasyonunun 23-41 mg/kg arasında olması istenmektedir (Tamime ve Deeth, 1980). Yoğurtlarda asetaldehit miktarının 10 ppm'in altına düşmesi aromanın yetersiz olmasına sebep olmaktadır (Atamer ve diğ., 1988).

Chaves ve diğ. (2002) tarafından farklı *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* suşlarında asetaldehit üretimi belirlenirken, bazı suşlarda saptanabilir düzeyde asetaldehit belirlenmemiştir. Belirlenen astaldehit miktarının ise 0,008 mg/ml'ye kadar tespit edildiği bildirilmiştir.

10 mM glikoz varlığında *Lc. lactis* suşları tarafından 0,1-9,5 mmol/l ve 0,3-47,4 mmol/l arasında değişen miktarlarda asetaldehit üretimi belirlenirken, 2 suшта asetaldehit üretimi tespit edilmemiştir (Bongers ve diğ., 2005).

Çalışmamızda en düşük asetaldehit üretimi Lj14A ve Lj38C (0,002 mg/ml) izolatlarında tespit edilmiştir. Diğer taraftan en yüksek oranda asetaldehitin Lr26A (0,023 mg/ml), Lc4A (0,022 mg/ml), Lc24C ve Lc29B (0,0221 mg/ml) kodlu izolatlar tarafından üretildiği, bu sonucun Chaves ve diğ. (2002) tarafından 0,008 mg/ml olarak bildirilen en yüksek asetaldehit miktarı ile Bongers ve diğ. (2005) tarafından bildirilen asetaldehit miktarlarından genel olarak fazla olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda Chaves ve diğ. (2002) tarafından da belirtildiği gibi izolatların asetaldehit üretiminin

suşa özgü olarak 0,002-0,023 mg/ml gibi geniş bir aralıkta dağılım gösterdiği belirlenmiştir.

#### 4.2.4. İzolatların Proteolitik Aktivite Tayini

Proteolitik aktivite mikroorganizmaların protein ve peptidleri parçalayarak gelişmesi için gerekli aminoasitlerin elde edilmesini sağlamanın yanında, fermente ürünlerde istenilen tat ve aromanın oluşması açısından da önemlidir. Bu nedenle özellikle fermente ürünlerde proteolitik aktivite gösteren başlatıcı kültürlerin kullanımı tercih edilmektedir. Proteolitik aktivitenin belirlenmesinde Hull yönteminden yararlanılmış, kazeinin parçalanarak tirozin ve triptofanın serbest kalması sağlanmıştır. İzolatların proteolitik aktivitesi ise tirozin eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (Hull, 1947).

Yaman ve diğ. (1998), *L. plantarum* suşlarının proteolitik aktivitesini 0,14-0,34 mg/ml tirozin olarak belirtirken, Badis ve diğ. (2004b) tarafından *L. plantarum* suşlarının 0,00256 mg/ml tirozin proteolitik aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Shihata ve Shah (2000) tarafından yapılan çalışmada ise 9 adet *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, 6 adet *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, 14 adet *L. acidophilus* ve 13 adet *Bifidobacterium* suşunun proteolitik aktiviteleri incelenmiş ve 3 adet *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, 1 adet *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, 2 adet *L. acidophilus*, 10 adet *Bifidobacterium* suşunun proteolitik aktivite göstermediği, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* suşlarının *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarına oranla proteolitik aktivitesinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda proteolitik aktivite gösteren tüm suşların proteolitik aktivitelerinin *Bifidobacterium* suşlarından daha yüksek olduğu kaydedilmiştir.

Başka bir araştırmada ise kefirde izole edilen 21 adet kok formdaki LAB'den *Lc. lactis* Z2S, Z3S, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* Z5S, Z12S, *E. durans* Z7S, Z8S, *Lc. cremoris* Z14S ve Z16S'nin proteolitik aktiviteye sahip olmadıkları, en yüksek proteolitik aktiviteye ise 0,09 mg/ml tirozin ile *Lc. cremoris* Z20S'nin sahip olduğu belirlenmiştir. (Yüksekdağ ve diğ., 2004). Karasu (2006), tarafından turşudan izole edilen laktobasil suşlarının proteolitik aktivitesinin 0,056-0,083 mg/ml tirozin olduğu belirtilirken, *L. pentosus*5 izolatında proteolitik aktivite tespit edilememiştir.

Yapılan bu arařtırmada ise 0,09 mg/ml ve 0,10 mg/ml ile en dūřuk proteolitik aktivite Lj 38C ve Lj31E, Lj31A nolu izolatlarda gōzlenmiřtir. Elde edilen bu en dūřuk deęerlerin Yūksekađ ve dię. (2004) tarafından bildirilen en yūkse deęerler ile aynı seviyede olduęu kaydedilirken, tūm suřların proteolitik aktivitesinin 0,10-0,27 mg/ml arasında deęiřtięi belirlenmiřtir. Genel olarak LAB'nin proteolitik aktivitesinin zayıf olduęu (Kılıç, 2008) dūřūnūlurse, incelenen 49 izolatın hepsinin proteolitik aktivite gōsterdięi ve izolatların proteolitik aktivitesinin de oldukça yūkse olduęu gōzlenmiřtir.

#### 4.2.5. İzolatların EPS Üretimi

Bakteriler tarafından oluřturularak hūcre dıřına salgılanan polisakkaritler olan EPS'ler bakteriyi koruyucu gōrev ūstlenirken, endūstriyel aıdan da ūzellikle sūt sanayinde su baęlayıcı, stabilize ve emūlsifiye edici, viskozite arttırıcı, yapıyı dūzenleyici ūzellikleri nedeni ile kullanılmaktadır. Dięer taraftan ūzellikle son yıllarda tūketicilerin katkı ihtiva etmeyen ūrūnler tercih etmesi, ūrūnde meydana gelen ıeřitli yapısal bozuklukların doęal yollarla ıōzūmlenmeye ıalıřılması gereklilięini oluřturmuřtur (Duboc ve Mollet, 2001). Bu amaıla ūzellikle son yıllarda fermente ūrūnlerde kullanılan bařlatıcı kūltūrlerin istenilen tat, aroma ve yapıyı oluřturma yanında EPS ūretimine sahip olması da istenmektedir.

Arařtırmadan elde edilen sonuılara gōre 49 izolatın hepsinin EPS ūretme yeteneęine sahip olduęu, ūretilen EPS miktarının ise 0,08 ile 0,54 mg/ml arasında deęiřtięi belirlenmiřtir. Van Geel-Schutten ve dię. (1998) tarafından yapılan ıalıřmada EPS ūretimleri incelenen 182 adet *Lactobacillus* suřundan 60 tanesinin EPS ūrettięi, bunlardan 17 suřun EPS ūretiminin 100 mg/l'den fazla olduęu belirtilirken, EPS ūretimi iıin en uygun bileřenin sakkaroz olduęu kaydedilmiřtir. Faber ve dię. (1998) *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* Rs ve Sts suřları tarafından 135 mg/l ve 127 mg/l EPS ūretildięini belirtmiřtir. Kılıç ve dię. (2003) tarafından ise *L. delbruecki* subsp. *bulgaricus* IFR 2772 ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* IFR 859 suřlarının ūrettięi EPS'nin sırasıyla 0,262 mg/ml, 0,374 mg/ml olduęu kaydedilmiřtir.

Pham ve diğ. (2000) tarafından yapılan ıalışmada ortamda glikoz ve laktoz gibi farklı temel bileşenler varlığında *L. rhamnosus* R tarafından sentezlenen EPS miktarının her iki şeker varlığında da yaklaşık olarak 0,5 mg/ml olduğu belirlenmiştir. Araştırmada

izolatların % 3 glikoz içeren ortamda EPS üretimlerinin belirlendiği göz önüne alındığında *L. rhamnosus* izolatları tarafından üretilen ve 0,17-0,34 mg/ml arasında değişen EPS miktarının Pham ve diğ. (2000)'nin sonuçlarından daha düşük olduğu gözlenmiş, ancak 0,54 mg/ml EPS üretimi ile Lj38C suşunun da bu değer aralığından yüksek olduğu kaydedilmiştir.

Shihata ve Shah (2002) proteolitik özellikteki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un ticari ABT başlatıcı kültürler (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* subsp., *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*) ile birlikte kullanıldığında yoğurt özellikleri üzerine etkilerini incelemişler ve bu kültürlerin farklı kombinasyonlar şeklinde kullanılması ile yoğurt örneklerindeki EPS miktarının 2,76-3,64 g/100g arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Tahıl kaynaklı *L. frumanti* TMW 1.103 ve bağırsak kaynaklı *L. sanfranciscensis* LHT 2590 suşlarının sukroz içeren ortamda EPS üretimlerinin sırasıyla 0,5g/kg ve 2 g/kg olduğu tespit edilmiştir (Tieking ve diğ., 2003).

*Str. salivarius* subsp. *thermophilus* suşları ile üretilen yoğurtlardan ST 1275 ile 42 °C'de inkübe edilen yoğurttaki 860 g/kg; ST 285 suşu ile 37 °C'de inkübe edilen yoğurttaki 768 g/kg EPS belirlenmiş ve depolama süresince EPS miktarında büyük ölçüde azalma gözlenmiştir (Purwandari ve diğ., 2007). Lin ve Chang Chien (2007) tarafından yapılan araştırmada 32 ile 84 saat arasında değişen fermantasyon süresinin *L. helveticus* BCRC14030, *L. helveticus* BCRC14076 ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* BCRC 14085'in EPS üretimi üzerine etkisi incelenmiş ve sırasıyla 0,25-0,73; 0,63-0,93; 0,73-0,93 mg/ml EPS üretimi tespit edilmiştir. Farklı besiyeri bileşenlerinin *Bf. longum* subsp. *infantis* CCUG 52486 ve *Bf. infantis* NCIMB 702205'in EPS üretimi üzerine etkisinin incelendiği çalışmada % 1,5 kazein hidrolizat varlığında suşların sırasıyla 0,285 ve 0,102 mg/ml EPS ürettikleri belirlenmiştir (Prasanna ve diğ., 2012).

EPS üretimi ortamda bulunan monosakkaritlerin kompozisyonuna, dallanma derecesine ve glikozidik bağların tipine bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir (Cerning, 1990). Van Geel Schutten ve diğ. (1998) MRS sıvı besiyerinde 20 g/l glikoz yerine 100 g/l olacak şekilde ayrı ayrı glikoz, fruktoz, maltoz, rafinoz, sukroz, galaktoz ve laktoz içeren ortamlarda 182 adet laktobasilin EPS üretimlerini gözlemlemiş ve en yüksek EPS üretiminin 100 g/l sukroz içeren ortamda gözlendiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda van Geel Schutten ve diğ. (1998) tarafından bildirilenin aksine % 10 sukroz içeren ortamda izolatlar gelişme göstermemiştir. Yüksekdağ ve Aslım (2008) tarafından ise en

fazla EPS üretiminin % 0,5, 1,0 1,5, 2,0 2,5 ve 3,0 oranında glikoz içeren ortamlardan % 3,0 glikoz içeren ortamda gözlemlendiği belirtilmiştir.

Yaptığımız çalışmada Yüksekdağ ve Aslım (2008) tarafından bildirildiği gibi % 3 glikoz içeren fermantasyon ortamında 16-18 saatlik inkübasyon sonrasında izolatların EPS üretimleri 0,08-0,54 mg/ml olarak belirlenmiştir. Farklı araştırmacılar *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un 0,06-0,15 mg/ml (Cerning, 1988; Cerning ve diğ., 1995) arasında değişen EPS üretim yeteneğine sahip olduğunu belirlemiştir. EPS üretiminin, bakterinin gelişme ve çoğalması sırasında uygulanan inkübasyon sıcaklığına, süresine ve ortamda bulunan besin maddelerine bağlı olarak değişebileceği (Kılıç ve diğ., 2003) göz önüne alındığında yaptığımız çalışmada belirlenen EPS miktarlarının bakterilerin teknolojik üretimde kullanılabilirliği açısından uygun seviyelerde olduğu düşünülmektedir.

### **4.3. Yoğurt İzolatlarının Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi**

#### **4.3.1. Yapay Mide Suyunda Canlılığın Belirlenmesi**

Mekanik ve kimyasal sindirim olarak ikiye ayrılan insan sindirim sistemi bu işlevleri yerine getiren üst sindirim ve alt sindirim kanallarından oluşmaktadır. 'Ağızdan anüse kadar iyi karakterize edilmiş çeşitli bölümlere ayrılan özel bir tüp' olarak ifade edilen sindirim sistemi (Mackie ve diğ., 1999) insan ve hayvanların yaşamlarını devam ettirebilmeleri için gerekli enerjinin üretilmesi amacıyla gerekli besinlerin alımını sağlayan, ağız ile başlayıp, atıkların vücuttan atıldığı anüs ile son bulan sistemdir. Genel olarak pH'nın 1,5'e kadar düşebildiği mide ortamı dışında sindirim sisteminin diğer bölümlerinde 7-9 arasında değişen bir pH hakimdir (Anonim c). Bu nedenle vücuda ağız yoluyla alınan besinler içerisindeki probiyotik mikroorganizmalar ilk olarak ağızdan geçişleri sırasında maruz kaldıkları lizozim vb. sindirim enzimlerine karşı dayanıklı olmalıdır. Ağıza alınan besinler yemek borusu ile mideye taşındıktan sonra yaklaşık olarak 3 saat boyunca midede kalmaktadır (Yavuzdurmaz, 2007). Bu nedenle vücuda alınan probiyotik mikroorganizmaların pH'sı 2-3 arasında değişen mide ortamında canlılıklarını devam ettirmesi gerekmektedir. Probiyotikler, mide asit ortamından ve safra tuzu, pankreatik sıvıların olduğu üst sindirim kanalından canlı



geçebildiği takdirde, alt sindirim kanalında ve kalın bağırsakta yararlı etkiler meydana getirebilmektedir (Ljungh ve Wadström, 2005).

Bakteri hücreleri kendi doğal çevrelerinde ya da endüstriyel işlemler sırasında farklı ölçülerde çeşitli abiyotik strese maruz kalırlar. İstenmeyen çevre koşulları karşısında bakteriler canlı kalabilmek için bu etkiye karşı bir koruma mekanizması geliştirmektedirler (Jan ve diğ., 2000). Oksijen varlığı, asitlik, işleme ve depolama sıcaklıkları, dondurarak kurutma vb. teknolojik işlemler probiyotik ürünlerde suşların canlılığını etkilemektedir. Üründe kullanılan probiyotik mikroorganizmalar ürünün işlenmesi sırasında maruz kaldıkları bu koşullar karşısında canlılıklarını devam ettirebildikleri takdirde, insan vücudunda midedeki hidroklorik asit nedeniyle düşük pH'lara maruz kalmaktadır. Bu nedenle asit ortamlara adapte olabilme; mikroorganizmalar açısından hem süt ürünlerinde başlatıcı kültür olabilme hem de probiyotik özellikte olan mikroorganizmalar açısından da sindirim sistemine ulaşabilme özelliği bakımından önemlidir. (Jan ve diğ., 2000; Sanz, 2007). Bu amaçla potansiyel probiyotik bakterilerin belirlenmesi için en önemli işlem sindirim sistemi benzeri bir ortamda suşların canlılıklarının incelenmesidir (Başyigit Kılıç ve Karahan, 2010; Zago ve diğ., 2011).

Yaptığımız araştırmada izolatların teknolojik özellikleri belirlendikten sonra probiyotik özelliklerinin belirlenmesi için ilk olarak pH'sı 3,5 olan yapay mide suyu ortamında canlılıkları incelenmiştir. İncelenen 49 izolattan 3 tanesi (La7F, La12B, La13B) pH'sı 3,5 olan yapay mide suyu ortamına alındıklarında canlılıklarını yitirmiştir. La4B, La22C, Lj21C ve Lj311-2 izolatlarının sayısında 120 dakika boyunca istatistik olarak önemli bir değişim gözlenmemiş ve izolatlar canlılıklarını koruyabilmiştir. La27B ve Lc12B izolatlarının ise bu süreçte canlılığının 1,08 ve 0,89 log arttığı gözlenirken, diğer 40 izolatın ise pH 3,5 ortamında 120 dakika boyunca sayılarında 0,16-3,39 log<sub>10</sub> KOB/ml arasında değişen oranda azalmalar gözlense de izolatların canlılıklarını sürdürebildikleri tespit edilmiştir.

Shuhaimi ve ark. (1999) tarafından yapılan araştırmada çocuk dışkısından izole edilen bifidobakterlerin pH'sı 1,0, 2,0 ve 3,0 olan HCl ortamlarında canlılıkları incelenmiştir. pH'sı 6,5 olan kontrol ortamında gelişme gösteren 28 izolattan 4 tanesi (*Bf. infantis* D22, F117, F34 ve Z45) 3 saat boyunca pH 3,0'da canlılıklarını sürdürürken, pH 2,0'da 5 izolat (*Bf. infantis* D22, F66, F34, G4 ve *Bf. breve* F100) 1

saat boyunca canlı kalabilmiş, pH 1,0'da ise 1 saat sonrasında hiçbir izolatin canlı kalamadığı tespit edilmiştir.

Xanthopoulos ve diğ. (2000) pH 3,0 ortamında test ettikleri bakterilerin % 27,7-99,99 arasında değişen oranlarda canlılıklarını kaybettiğini belirtmişlerdir. *L. acidophilus* DC601 suşu % 99,9 oranında DC602 suşu ise % 31,7 oranında canlılığını kaybetmiştir. Araştırma sonucunda *L. paracasei* subsp. *paracasei* DC412, DC414, *L. rhamnosus* DC425, *L. reuteri* DC420 ve DC423'ün *L. acidophilus* DC602, *L. gasseri* DC422 ve *L. rhamnosus* DC42'a oranla mide suyu ortamına daha dayanıklı oldukları belirlenmiştir. Chang ve diğ. (2001) tarafından LAB'nin probiyotik olarak seçilmesi için bağırsağa ulaşırken geçirdikleri 90 dakikalık sürede canlı kalmalarının yeterli olacağı savunulmaktadır. Yaptığımız çalışmada pH'sı 3,5 olan yapay mide suyu ortamında canlılıklarını yitiren 3 suş dışında diğer 46 izolatin canlılığını devam ettirdiği belirlenmiştir.

Vinderola ve Reinheimer (2003) tarafından yapılan bir çalışmada pH'sı 3,0 olan yapay mide suyu ortamında 3 saat boyunca *L. casei* ve *L. rhamnosus* sayılarında 2,7-5,9 logaritmik birim azalma olduğu belirtilirken, Cebeci ve Gürakan (2003) tarafından 13 adet *L. plantarum* suşundan 6 tanesinin asit toleransına sahip olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda da pH'sı 3,5 olan yapay mide suyu ortamında 120 dakika boyunca *L. rhamnosus* besiyerinden elde edilen izolatlarda 0,81-2,52; *L. casei* besiyerine ait izolatlarda ise 0,67- 3,39 logaritmik birim azalma tespit edilirken, bu sonucun yapılan çalışmalara göre daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Farklı *L. rhamnosus* suşları arasından pH 2,0 ortamında 90 dakika canlılıklarını yüksek oranda koruma özelliği ile seçilen *L. rhamnosus* GG suşlarının ortamda 19,4 mM glikoz varlığında canlılıklarını koruyabildikleri, aynı ortamdan glikozun uzaklaştırılması ile 90 dakika sonunda canlı hücre sayısında yaklaşık 5,6 log<sub>10</sub> KOB/ml oranında bir düşüşün olduğu gözlenmiştir (Corcoran ve diğ., 2005).

pH'sı 2,0 ile 8,0 arasında değişen ortamlarda canlılıkları incelenen *L. acidophilus* ve *Bf. bifidum* suşlarından *Bf. bifidum* suşlarının hepsinin incelenen ortamlarda *L. acidophilus* suşlarına göre daha dayanıklı oldukları, bunun yanı sıra pH 2,0 ve 3,0 ortamlarında *L. acidophilus* suşlarının 24 saate kadar canlılıklarını korudukları belirtilmektedir. 144 saate kadar canlılıklarını koruyabilen suşların, canlılıklarını pH etkisinden değil, ortamdaki besin elementlerinin tükenmesi nedeniyle

kaybettikleri kaydedilmiştir (Goderska ve Czarnecki, 2007). Domuz yavrusu ince bağırsağından izole edilen 62 adet laktobasil suşundan 20 tanesinin pH 3,0 ortamına ve safra tuzlarına karşı toleranslı oldukları kaydedilmiştir (Iñiguez Palomares ve diğ., 2007).

Tambekar ve Bhutada (2010) tarafından yapılan çalışmada çiğ keçi sütünden izole edilen 48 adet laktobasil suşunun çeşitli probiyotik özellikleri incelenmiş, izolatlardan 5 tanesinin (*L. plantarum* G95a, G96a, *L. rhamnosus* G92, G99c, G119b) pH 2,0 ortamına toleranslı oldukları tespit edilmiştir. Başyığıt Kılıç ve Karahan (2010) tarafından dışkıdan izole edilen LAB suşlarının canlı hücre sayısının pH'sı 3,5 olan MRS sıvı besiyeri ortamında yaklaşık olarak 1 log arttığı; 3 saatlik inkübasyon sonrasında ise canlı hücre sayısının 1-2 log azaldığı belirtilmiştir. *L. plantarum* (AA1-2, AA17-73, BC18-81, AC18-88, AK4-11 ve AK7-28), *L. fermentum* (AB5-18, BB16-75, BB19-90 ve AK4-180), *E. faecium* (AB20-98 ve BK11-50) ve *E. durans* (AK4-14 ve BK9-40) suşlarının pH 3,5'e karşı yüksek toleransa sahip oldukları bildirilmiştir.

Pisano ve diğ. (2011), iki farklı İtalyan peynirinden izole ettikleri LAB'den 4 adet *L. plantarum* suşunun pH'sı 2,0 olan ortamda 2 saat süreyle canlılıklarını koruyabildiklerini gözlemlemiştir. Floros ve diğ. (2012) tarafından yapılan çalışmada ise Feta, Graviera ve Kasserli peynirlerinden izole edilerek *L. paracasei* subsp. *paracasei* ve *L. plantarum* oldukları belirlenen 19 adet laktobasilin çeşitli teknolojik ve probiyotik özellikleri incelenmiştir. Feta peynirinden izole edilen suşların diğerlerine göre düşük pH'ya daha dayanıklı oldukları, pH 2,0 ortamında 3 saat sonrasında bile canlı hücre tespit edilebildiği belirtilmiştir.

Başyığıt Kılıç ve diğ. (2012) tarafından çeşitli probiyotik özellikleri incelenen 20 adet *L. plantarum* suşunun pH'sı 3,5, 3,0 ve 2,5 olan yapay mide suyu ortamlarında 2 saatlik inkübasyon süresince canlılıklarını devam ettirdikleri, pH 2,0 ortamında ise 14 adet bakterinin sadece 1 log<sub>10</sub> KOB/ml' lik bir azalma gösterdiği belirtilmiştir.

#### **4.3.2. % 0,4 Fenol Toleransının Belirlenmesi**

Gastrointestinal mikroflora, vücudun hızlı yenilenen ve metabolik adaptasyona sahip bir organı olarak tanımlanmıştır (Roberfroid ve diğ., 1995; Scheinbach, 1998; Mackie ve diğ., 1999). Tüketilen bileşikler, bağırsağa kan, safra yoluyla veya lumene

direkt alınarak, mikrobiyel taşınma için ana substratları oluştururlar (Gibson ve Roberfroid, 1995). Sindirim sisteminin diğer bölümleri ile karşılaştırıldığında kalın bağırsak en karışık ve en fazla mikroorganizma popülasyonuna sahip bölümdür. Sindirilmemiş kompleks karbonhidratlar ile kısa zincirli yağ asitleri kolonik mikrobiyel fermantasyonun başlıca son ürünleridir (Fooks ve diğ., 1999). Üretilen bu yağ asitleri konakçı tarafından enerji kaynağı olarak kullanılırken, mikrobiyel proteoliz ve karbonhidrat metabolizması sonucunda amonyak, fenol, indol ve aminler gibi toksik yapılar da oluşmaktadır (Macfarlane ve Macfarlane, 1995). Birkaç mikroorganizma dışında gıdalarla alınan bakteriler, oluşan bu asidik mide ortamında canlılıklarını koruyamamaktadır (Dunne, 2001). Sindirim sisteminde probiyotik bakterilerin fenole maruz kalmaları nedeniyle potansiyel probiyotik bakterilerin fenol dirençlerinin belirlenmesi, LAB'nin gastrointestinal şartlarda canlı kalabilmesi hakkında bilgi vermektedir (Xanthopoulos ve diğ., 2000).

Bu araştırmada incelenen 49 izolattan 25 adedi % 0,4 fenol içeren MRS sıvı besiyeri içerisinde 24 saat boyunca canlılıklarını devam ettirebilmiş, ancak sayıları istatistik olarak önemli derecede azalmıştır. Lr31A izolatında ise başlangıca oranla 24. saatte istatistik olarak önemli bir artışın olduğu tespit edilmiştir.

*L. acidophilus*'un fenole karşı diğer suşlara göre daha dayanıklı olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Šušković ve diğ., 1997; Xanthopoulos ve diğ., 2000). Çalışmamızda da % 0,4 fenol içeren ortamda 24 saat süresince canlılık gösteren 25 bakterinin 11 tanesinin *L. acidophilus*, 6 tanesinin *L. casei*, 6 tanesinin *L. johnsonii*, 2 tanesinin *L. rhamnosus*'a özgü besiyerlerinden izole edildiği göz önünde bulundurulduğunda *L. acidophilus* besiyeri izolatlarının % 0,4 fenole karşı daha toleranslı olduğu ifade edilebilir.

Vizoso Pinto ve diğ. (2006) tarafından test edilen *L. plantarum* suşlarından 6 adedinin yaklaşık 7,6-8,0 log<sub>10</sub> KOB/ml olan başlangıç sayılarının % 0,4 fenol ortamında 24 saat sonrasında da aynı kaldığı belirtilirken, Pan ve diğ. (2009) ortamda oligosakkarit ve glikoz varlığının *L. acidophilus* ve *L. plantarum*'a karşı % 0,4 fenolün inhibisyon etkisini azalttığını belirtmiştir.

Kumar ve diğ. (2012) tarafından yöresel salamura sebze ve fermente içeceklerden izole edilen laktobasiller arasından *L. delbrueckii* LA4 ve *L. bulgaricus* LA3 suşlarının 24 saat sonrasında % 0,4 fenol içeren ortamda tamamen inhibe edildiği,

*L. helveticus* LA2'nin yaklaşık 3 log<sub>10</sub> KOB/ml'lik bir azalma ile büyük ölçüde inhibe edildiği belirtilirken, *L. casei* LA1'in 24 saatlik inkübasyon sonrasında 7,6-8,0 log<sub>10</sub> KOB/ml'lik başlangıç sayısında azalma olmadığı ve en dirençli suş olduğu kaydedilmiştir. Diğer taraftan suşların hiçbirisinde fenol ortamındaki inkübasyon sırasında gelişme olmadığı belirtilmiştir. Başyigit Kılıç ve diğ. (2012) tarafından yapılan çalışmada % 0,4 oranında fenol içeren MRS sıvı besiyeri içerisinde 24 saat inkübasyon süresince başlangıç sayıları olan 7 log<sub>10</sub> KOB/ml düzeyini yaklaşık olarak aynı oranda korudukları, azalma meydana gelen suşlarda ise 1 log<sub>10</sub> KOB/ml'den daha az bir düşüşün olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda da % 0,4 fenole karşı tolerans gösteren suşların 24 saatlik inkübasyon süresince genel olarak sayılarında bir artış tespit edilemezken, sadece Lr 31A izolatının sayısında 0,57 log<sub>10</sub> KOB/ml'lik bir artış olduğu, Lj31E izolatının ise 6,36 log<sub>10</sub> KOB/ml olan başlangıç sayısının aynı kaldığı tespit edilmiştir.

#### 4.3.3. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Üretimi

LAB fermantasyon süresi boyunca bir dizi ikincil metabolit sentezlemekte (Stanton ve diğ., 2005), üretilen organik asitler, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, diasetil, asetaldehit, bakteriyosin gibi bileşiklerle antimikrobiyel etki sağlanmaktadır. Üretilen bu antimikrobiyel bileşenler ise Gram pozitif ve negatif patojenlere karşı spesifik antagonistik etki gösterirler (Annuk ve diğ., 2003). LAB tarafından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi başta suşa özgü olmakla birlikte, ortamda oksijen varlığı da önemli bir kriterdir (Helander ve diğ., 1997).

Aslım ve diğ. (2000) tarafından yapılan çalışmada 5'er adet *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* suşunun 0,26-0,51 µg/ml arasında değişen oranlarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ürettiği belirlenmiştir. Martín ve diğ. (2005) tarafından incelenen laktobasil suşlarından sadece *L. gasseri* CECT 5714, CECT 5715 ile *L. johnsonii* La1 suşlarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi belirlenmiş ve suşların ürettikleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının sırasıyla 6,68, 7,43, 7,70 µg/ml olduğu kaydedilmiştir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi açısından test edilen 72 laktobasil suşunun % 23'ünün güçlü, % 34'ünün orta, % 38'inin zayıf H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üreticisi olduğu belirlenirken, % 5'inin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretmediği, en iyi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üreticilerinin ise *L. gasseri* CRL1412 ve *L. gasseri* CRL1421 oldukları belirlenmiştir

(Otero ve Nader Macías, 2006). Amerikan fermente süt ürünü ve çocuk dışkısından izole edilen *L. plantarum* suşlarından sadece 2 tanesinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ürettiği, kontrol amaçlı kullanılan referans probiyotik suş *L. johnsonii* LA1 (BFE663)'in de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretmediği Vizoso Pinto ve diğ. (2006) tarafından yapılan çalışmada belirtilmiştir.

Aerobik şartlar altında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi incelenen, salamura sebze ve fermente içeceklerden izole edilen LAB suşlarından sadece *L. casei* LA1 ve *L. helveticus* LA2 suşlarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi belirlenmiştir (Kumar ve diğ., 2012). Başyigit Kılıç ve diğ. (2012), ise 20 adet *L. plantarum* suşundan sadece AC18-82 suşu tarafından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretildiğini belirtmişlerdir.

Yapılan çalışmada izole edilen LAB'den en iyi teknolojik özelliklere sahip 49 izolatın tamamının H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ürettiği belirlenmiştir. Bu sayede bu bakterilerin diğer bakteri, fungus ve virüsler üzerinde oluşturacağı inhibitör ve toksik etki sayesinde ürünün raf ömrünün uzatılmasında olumlu etki sağlayacağı düşünülmektedir.

#### 4.3.4. β- Galaktozidaz Aktivitesinin Belirlenmesi

β-galaktozidaz, indirgeyici olmayan β-D-galaktozid parçacıkları β-galaktozidazdan basit monosakkaritler olan glikoz ve galaktoza parçalayan hidrolitik bir enzim olup, ilaç ve gıda sanayinde çeşitli uygulamaları bulunmaktadır. (Akolkar ve diğ., 2006). Glikoz ve galaktoza parçalanan laktoz bu sayede bağırsak epiteli boyunca kolaylıkla emilebilmektedir (Troelsen, 2005; Heyman, 2006). Laktozun sindirilememesinden kaynaklı ağrı, ishal, bulantı, gaz ve şişkinlik gibi semptomlar yaşam kalitesini düşürmekte, günlük aktiviteleri sınırlandırmaktadır. Özellikle laktoz intoleransın önlenmesi için önem taşıyan β-galaktozidaz, çoğu LAB tarafından üretilmektedir (Corral ve diğ., 2006; Nguyen ve diğ., 2007). Bu bakteriler GRAS sınıfında yer aldığı için elde edilen enzimin ileri düzeyde saflaştırmaya ihtiyaç duyulmadan kullanılabilmesi, bakterilerin bazılarının probiyotik özellik taşıması ve bu bakteriler tarafından üretilen β-galaktozidazın süt ürünlerinde yan etki göstermemesi bu bakteriler üzerine yapılan çalışmaların yoğunlaşmasını sağlamıştır (Gheyanchi ve diğ., 2010)

5 °C sütte ve sıvı nitrojende (-196°C) depolama süresince β-galaktozidaz aktivitesi incelen 3 adet *L. acidophilus* suşunun 0,048-0,177 U/10<sup>7</sup> organizma arasında

değişen oranlarda aktivite gösterdiği, hücre canlılığı ve  $\beta$ -galaktozidaz aktivite kaybının 5 °C’de depolanan sütte meydana geldiği belirlenmiştir (Gilliland ve Lara, 1988).

Laktik başlatıcı kültürler (*Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Lc. lactis*) ile karşılaştırılan probiyotik suşların (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* ve bifidobakterler)  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesinin daha yüksek olduğu, laktokoklarda ise  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi gözlemlenmediği, en yüksek  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesinin ise 675-1301 Miller birimi arasında değişen oranlarda *L. acidophilus* suşlarında gözlemlendiği bildirilmiştir (Vinderola ve Reinheimer 2003).

Akolkar ve diğ. (2006) tarafından yapılan çalışmada Hindistan’a özgü bir darı çeşidinden izole edilen *L. acidophilus*’un  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi incelenmiş, tüm hücre süspansiyonunda 800-1000 U/ml aktivite belirlenmiş, hücre dışı sıvıda hiç aktivite gözlenmezken, hücre içi ekstraktta 250-300U/ml aktivite tespit edilmiştir. Hücre parçacıkları enzim aktivitesi için incelendiğinde ise 1500-2000 U/ml aktivite belirlenmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada ise süt ve peynirlerden izole edilen LAB’den süttten izole edilenlerin enzim aktivitesinin 22,7-1,325 U/ml; peynirden izole edilenlerin ise 103,1-1,966 U/ml arasında değiştiği belirlenmiştir. En yüksek  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi peynirden izole edilen *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *L. casei* izolatları ile süttten izole edilen *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *tolerans* ve *L. plantarum* suşlarında belirlenmiştir. En düşük enzim aktivitelerinin ise sırasıyla 22,7, 44,4, 64,4 U/ml ile 2 adet *L. casei* subsp. *rhamnosus* ve 1 adet *L. plantarum* izolatında gözlemlendiği bildirilmiştir (Gheytañchi ve diğ., 2010).

Çalışmamızda izolatların  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesinin 2,40-517,32 nmol/dakika/OD650/ml (Miller birimi) aralığında değiştiği gözlenirken Lr31A ve Lj31E izolatlarında ise  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi tespit edilememiştir. Çoğu araştırmacı tarafından da belirtildiği gibi *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*’un  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi diğer probiyotik bakterilerden daha yüksektir (Lin ve diğ., 1991; Vinderola ve Reinheimer, 2003). Çalışmamızda La grubu izolatlardan elde edilen değerlerin 5,13- 517,32 nmol/dakika/OD650/ml aralığında değiştiği gözlenmiştir. Elde edilen bu değerlerin Vinderola ve Reinheimer (2003) tarafından bildirilen 675-1301 Miller biriminden biraz düşük olduğu görülmektedir. Ancak genel olarak elde edilen değerlerin Akolkar ve diğ. (2006) tarafından bildirilen

değerlerden düşük, Gheytanchi ve diğ. (2010) tarafından bildirilen en düşük 22,7, 44,4, 64,4 U/ml değerlerinden ise daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

#### 4.4. Yoğurt Analizleri

##### 4.4.1. Yoğurtların Mikrobiyolojik Analizleri

Yoğurt kimyasal yapısı, sağlık ve beslenme üzerine yarattığı olumlu etkilerin yanı sıra içerdiği mikroflora bakımından da önemli bir gıdadır. Genel olarak kabul edildiği şekliyle yoğurdun sağlık üzerine olumlu etki oluşturabilmesi için ml'de en az  $10^6$  düzeyinde canlı probiyotik bakteri içermesi gerekmektedir (Ravula and Shah, 1998). Yoğurtta probiyotik bakterilerin canlılığı asitlik, pH,  $H_2O_2$ , oksijen içeriği, laktik asit, asetik asit, depolama sıcaklığı gibi pek çok faktör tarafından etkilenmektedir (Lankaputhra ve diğ., 1996; Shah, 2000). Yapılan çalışmalarla bifidobakteri ve laktobasillerin fermente keçi sütü ürünlerinde önemli düzeyde canlı kalabildikleri ancak değişen oranlarda büyüme ve canlılık gösterdikleri (Farnsworth ve diğ., 2006; Güler Akın ve Akın, 2007), az yağlı yoğurtlarda ise depolama süresince gözlenen hızlı asit gelişiminin probiyotik bakterilerin canlılığı üzerine olumsuz etki yarattığı belirtilmiştir (Vinderola ve diğ., 2002). Bazı yoğurt tipleri fiziko kimyasal yapısı itibariyle bazı probiyotik bakterilerin gelişmesi ve canlılıklarını koruması için gerekli ve yeterli besinsel elementleri içermeyebilir. Bu nedenle farklı tip yoğurt üretimi yapılırken, ortama en uygun probiyotik bakteri ve başlatıcı kültür seçimi yapılmalı, aynı zamanda seçilen kültürün üründe oluşturacağı aroma ve tat da düşünülerek tüketici tercihleri de göz önüne alınmalıdır (Vinderola ve diğ., 2000; Güler Akın ve Akın, 2007).

Kavas ve diğ. (2003) tarafından üretilen fermente keçi sütü ürünlerinde *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı depolamanın 1. gününde  $4,89 \times 10^6$ - $7,58 \times 10^7$  KOB/g düzeyinde belirlenirken, depolamanın 14. gününde  $1,17 \times 10^6$ - $1,65 \times 10^6$  KOB/g olarak belirlenmiştir. *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* sayısı 7. günde 1. güne oranla düşüş gösterse de, depolamanın 14. gününde çok az artış göstermiştir. Başka bir araştırmada depolama başlangıcında  $10^8$  KOB/g düzeyinde olan *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının depolamanın 4. haftasında homojenize keçi yoğurtlarında  $10^6$ , sade keçi yoğurtlarında ise  $10^5$  KOB/g düzeyinde olduğu belirtilirken (Senaka Ranadheera ve



diğ., 2012), Vinderola ve diğ. (2000) tarafından 4 haftalık depolama süresince *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısında önemli bir değişimin olmadığı bildirilmiştir.

Birollo ve diğ. (2000) ve Vinderola ve diğ. (2000) tarafından depolama süresi sonunda yoğurtlardaki *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* sayısının *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısından daha fazla olduğu belirtilirken, Senaka Ranadheera ve diğ. (2012) tarafından *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Ancak Dave ve Shah (1997a, 1997b) *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* sayısının depolama süresi sonunda laktobasillerden daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Diğer taraftan yoğurtların depolanması sırasında plastik kapların kullanılmasının, cam kaplara göre daha yüksek oksijen geçirgenliği sağladığı için *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* canlılığını desteklediği belirtilmektedir (Senaka Ranadheera ve diğ., 2012).

Martín Diana ve diğ. (2003) tarafından fermente keçi sütlerinde başlangıçta  $7-8 \times 10^8$  KOB/g olarak belirtilen *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* sayısının 21 günlük depolama süresinde önemli bir değişim göstermediği belirtilmiştir. *L. acidophilus*, *B. lactis*, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* gibi grupları içeren karışık başlatıcı kültür kombinasyonlarının fermente keçi sütü üretiminde başarıyla kullanılabileceği bildirilmiştir (Cutic ve diğ., 2004). Donkor ve diğ. (2005) tarafından yoğurt üretiminde başlatıcı kültür olarak kullanılan *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* Lb1466 ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* St1342 suşlarının sayısında depolamanın 3. haftasından sonra bir azalma olduğu, probiyotik bakteri sayısında ise önemli bir değişimin olmadığı belirtilmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından set tipi yoğurt üretiminin probiyotik bakteri gelişimini desteklediği belirtilmektedir (Hull ve Roberts, 1984; Gardini ve diğ., 1999).

Çalışmamızda üretilen keçi yoğurtlarının *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısında depolama süresince önemli bir değişimin olmadığı gözlenirken elde edilen bu değerler Martini Diana ve diğ. (2003) tarafından bildirilen değerlerle benzerlik göstermektedir. Donkor ve diğ. (2005) tarafından yapılan araştırmada bu bakteri sayılarında önemli düzeyde azalış tespit edilirken, bu sonuçların aksine Martini Diana ve diğ. (2003) tarafından depolama süresince *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* sayılarında önemli bir değişimin gözlenmediği belirtilmiştir. Bizim sonuçlarımızda Senaka Ranadheera ve diğ. (2012)

tarafından belirtilenin aksine, K grubunda 21 günlük depolama süresince *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının *Str. salivarius* subsp. *termophilus* sayısından daha düşük olduğu, ancak D grubunda bildirilen değerlere paralel olarak *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının *Str. salivarius* subsp. *termophilus* sayısından daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Nighswonger ve diğ. (1996) *L. acidophilus* ve *L. casei*'nin destek kültür olarak kullanıldığı yoğurtlarda LAB sayısının depolama sonrasında azaldığını belirtirken, Başyigit Kılıç ve diğ. (2012) tarafından inek sütü kullanılarak üretilen yoğurtlarda LAB sayısının depolama süresince yaklaşık olarak aynı kaldığı, sadece işletme kültürü ile üretilen kontrol grubunda depolamanın 21. gününde önemli düzeyde azaldığı bildirilmiştir. 21 günlük depolama süresi sonunda yoğurtların toplam LAB sayısının Başyigit Kılıç ve diğ. (2012) tarafından da belirtildiği gibi yaklaşık olarak aynı düzeyde kaldığı tespit edilmiştir.

Minervini ve diğ. (2009) tarafından yapılan çalışmada LAB'nin (*Str. salivarius* subsp. *thermophilus* CR12, *L. casei* LC01, *L. helveticus* PR4, *L. plantarum* 1288) tek tek ya da birlikte kullanılmasıyla üretilen fermente keçi sütünde; süte LAB'nin ilavesinden sonra 37 °C'de pH 4,6'ya kadar inkübe edilmiş, inkübasyon sonrasında farklı başlatıcı kültürlerin sayısının 7,84-8,77 log<sub>10</sub> KOB/g olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada 4 °C'de 45 gün süreyle depolamanın sonunda bile bakterilerin canlılığını yaklaşık olarak 7,0 log<sub>10</sub> KOB/g düzeyinde koruduğu tespit edilmiştir. Başlangıç sayısı 7,00 log<sub>10</sub> KOB/g olan *L. casei*'nin 45 günlük depolama sonrasında sayısının 7,84 log<sub>10</sub> KOB/g düzeyinde olduğu gözlenmiştir. Üretim sırasında süte uygulanan ısıl işlemde sonra süt içerisinde maya ve küf kalmadığı, TMAB sayısının 2,1 log<sub>10</sub> KOB/g olduğu da araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. Çalışmamızda yoğurt üretiminde kullandığımız sütün TMAB sayısının Minervini ve diğ. (2009) tarafından bildirildiği gibi 10<sup>2</sup> KOB/ml düzeyinde olduğu gözlenirken, yoğurtların TMAB sayısının depolamanın 7. gününe kadar 8 log<sub>10</sub> KOB/g düzeyinde olduğu, ancak depolamanın ilerleyen günlerinde azalış gösterdiği belirlenmiştir.

Wang ve diğ. (2012) tarafından üretilmiş *L. acidophilus*, *L. casei* ve *Bifidobacterium* subsp. içeren keçi sütü yoğurtlarında 4 haftalık depolama süresince *L. casei* ve *Bifidobacterium* suşunun yaklaşık 10<sup>6</sup> KOB/g düzeyinde canlı kaldığı, ancak depolamanın ilk 3 haftasında 10<sup>6</sup> KOB/g düzeyinden daha yüksek miktarda canlılık

gösteren *L. acidophilus*'un depolamanın 4. haftasında canlı kalamadığı tespit edilmiştir. Toplamda 12 haftalık depolama süresinde üründe maya ve küf gözlenmediği belirtilmiştir. Yoğurtların depolanması sırasında genel olarak probiyotik bakteri sayısının azaldığı çoğu araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Vinderola ve diğ., 2000; Vinderola ve diğ., 2002; Senaka Ranadheera ve diğ., 2012).

Senaka Ranadheera ve diğ. (2012) tarafından üretilen probiyotik homojenize meyveli ve sade yoğurtlarda 4 haftalık depolama süresi boyunca probiyotik bakterilerin canlılığının tespit edildiği, kültür canlılıklarının yaklaşık olarak  $10^7$ - $10^8$  KOB/g düzeyinde iken, sadece *L. acidophilus* LA5 kültürünün  $10^6$  KOB/g düzeyinden düşük olduğu belirtilmiştir. İnkübasyon öncesinde sırasıyla 6,82  $\log_{10}$  KOB/g ve 7,40  $\log_{10}$  KOB/g olan *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının inkübasyon sonrasında 7,72  $\log_{10}$  KOB/g ve 8,58  $\log_{10}$  KOB/g olduğu belirtilmiştir. Bizim sonuçlarımızla benzer şekilde araştırmacılar depolama süresi boyunca *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* sayısında önemli bir değişim gözlemlenmemiştir.

Çalışmamızda D grubu yoğurt üretiminde kullanılan probiyotik olma potansiyeli bulunan ve teknolojik olarak üstün özelliklere sahip *L. casei* ve *L. rhamnosus* suşlarının sayısında depolamanın 14. gününden itibaren azalma tespit edilmesine rağmen, belirlenen en düşük bakteri sayısının 21. günde 6,56  $\log_{10}$  KOB/g olarak tespit edildiği, bu değer de Ravula ve Shah (1998) tarafından belirtilen yoğurdun olumlu bir sağlık etkisi oluşturabilmesi için ml'de en az  $10^6$  düzeyinde canlı probiyotik bakteri içerme şartını sağladığı görülmüştür.

Yapılan farklı çalışmalarla da *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*'un yoğurdun raf ömrü boyunca canlılığını koruyabildiği (Rohm ve diğ., 1990; Akalın ve diğ., 2004), yoğurdun depolama süresince üretilen organik asitlerin probiyotik bakterilerin canlılıklarını etkileyebileceği (Shah ve Ravula, 2000), aynı zamanda ürünün 4 °C'de depolanmasında probiyotik bakterilerin 10 güne kadar yüksek oranda canlılığını koruyabildiği belirtilmiştir (Kongo ve diğ., 2006). Bizim araştırmamızda üretilmiş olan yoğurtlarda depolamanın 21. gününde bile  $10^6$  KOB/g düzeyinden daha yüksek miktarda probiyotik mikroorganizma belirlenmiştir.

Depolama süresince yoğurtların bakteri sayısında gözlenen azalmanın Shah ve Jelen (1990) tarafından da belirtildiği gibi gözlenen pH düşüşü, oluşan organik asitlerle

diğer bileşenlere bağı olduğu savunulabilir. *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*'un oksijeni kullanması sayesinde yarattığı anaerobik ortamın *Bifidobacterium* subsp.'nin canlılığını devam ettirmesi üzerinde önemli bir rolü olduğu Lourens Hattingh ve Viljoen (2001) tarafından belirtilmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda ürettiğimiz yoğurtlarda oksijen içeriğinin azalmasının yoğurda ilave edilen probiyotik *L. casei* ve *L. rhamnosus*'un depolama süresince canlılıklarını korumaları açısından olumlu etki sağladığı düşünülebilir.

Yoğurdun raf ömrünün belirlenmesinde en önemli faktörlerden birisi de güvenli olarak tüketilebildiği süreçtir. Maya ve küfler özellikle yoğurtta düşük pH'yı tolere edebilmeleri nedeniyle gözlenen ve üretim sırasında herhangi bir kontaminasyonun varlığını işaret eden temel bozucu mikroorganizmalardır (MacBean, 2009). Yoğurtta özellikle ortam ve ambalaj kaynaklı kontaminasyonlar ön plana çıkmaktadır (Topal, 1994). Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde de belirtildiği şekliyle maya küf miktarının  $10^1$  KOB/g'dan düşük olması istenmektedir. Senaka Ranadheera ve diğ. (2012) depolama süresince yoğurtlarda maya küf ve koliform tespit edilmediğini belirtilirken, Kavas ve diğ. (2003) tarafından ise üretilen fermente keçi sütlerinde başlangıçta  $1,20 \times 10^2$  KOB/g düzeyinde olan maya küf sayısının,  $7,94 \times 10^2$  KOB/g düzeyine yükseldiği belirtilmiştir. Bu çalışmada, üretilmiş olan yoğurtlarda depolama süresi boyunca koliform bakteri tespit edilmemiş, maya ve küf sayısının ise  $10^1$  KOB/g'dan düşük olduğu belirlenmiştir.

Araştırmada D grubu yoğurt üretiminde kullanılan Lc14C, Lc37C, Lr12A ve Lr26A suşlarının araştırmanın başlangıcında moleküler yöntemlerle tür düzeyinde tanısının yapılması ve üretilmiş olan yoğurtlardan depolama süresince izole edilecek olan bu bakterilerin tekrar moleküler yöntemlerle tanımlandıktan sonra üründeki sayısının belirlenmesi daha kesin sonuçlara ulaşılmasını sağlayacaktır. Ancak bu çalışmada bahsedilen tanı testleri yapılamamıştır.

## 4.4.2. Yoğurtların Fizikokimyasal Analizleri

### 4.4.2.1. Kuru Madde Miktarı

% kuru madde içeriği özellikle tüketicinin damak tadına uygun, yapı ve tekstüre sahip ürünlerin elde edilebilmesi için önemlidir. Bu amaçla ticari olarak üretilen yoğurtlarda kuru madde ayarlaması yapılırken, TS 1330 yoğurt standardında kuru madde içeriğinin en az % 12 olması gerektiği belirtilmektedir.

Kavas ve diğ. (2003) tarafından yapılan çalışmada sadece keçi sütü ve keçi sütü ile inek sütünün farklı oranlarda karışımı ile üretilen yoğurtların % kuru madde miktarının depolama süresinde % 15,63-16,97 arasında değiştiği, süt çeşidi ve konsantrasyonun kuru madde miktarı üzerinde istatistik olarak önemli bir fark yaratmadığı belirtilmiştir. Martín Diana ve diğ. (2003) tarafından keçi sütü ile üretilen fermente süt ürününün kuru madde miktarının % 14,3 olduğu; % 3 ve % 5 oranında peyniraltı suyu proteinleri ilave edilen sütlerde ise protein miktarındaki artışa bağlı olarak sırasıyla % 16,7 ve % 17,8 kuru maddenin tespit edildiği belirtilmiştir.

Farnsworth ve diğ. (2006), keçi sütü kullanarak ürettikleri yoğurtların kuru madde içeriğinin % 10,98 olduğunu belirtirken bu değer Güler (2007) tarafından % 17,82; Güler ve Gürsoy Balcı (2011) tarafından ise % 14,03 olarak gözlenmiştir. Wang ve diğ. (2012) tarafından üretilen keçi yoğurtlarının kuru madde miktarının % 11,83 olduğunu belirtirken bu değer Senaka Ranadheera ve ark. (2012)'nin ürettiği yoğurtlarda ise % 16,12 olarak belirtilmiştir.

İyi özellikte bir yoğurdun % 15-16 toplam kuru maddeye sahip olması gerektiği belirtilirken, çoğu ticari firma tarafından üretilen yoğurtlarda bu değer % 14-15 arasına düşmektedir (Tamime ve Robinson, 2001). Yoğurtlarda tüketici tercihleri ile belirlenen yapının oluşturulabilmesi için üretim sırasında süt tozu, peyniraltı suyu proteinleri gibi çeşitli katkılarla kuru madde miktarı arttırılmaktadır. Diğer taraftan üretimde kullanılan süt çeşidi de kuru madde üzerinde etkilidir (Martín Diana ve diğ., 2003). Bu durum Güler Gürsoy ve Balcı (2011) tarafından da belirtilmiş; keçi sütünden üretilen yoğurtlarda kuru madde içeriği % 14 olarak belirlenirken, koyun sütü yoğurtlarında bu oran % 16 olarak belirtilmiştir. Yoğurdun kuru madde ve yağ içeriği gibi parametreler

özellikle su salma ve viskozitesi üzerinde etkili olmaktadır (Senaka Ranadheera ve diğ., 2012).

Kuru madde standardizasyonu ile üretilen yoğurtlardan elde edilen sonuçların aksine Farnsworth ve diğ. (2006) yapılan çalışmada, bizim çalışmamıza benzer şekilde kuru madde ayarlaması yapılmamıştır. Farnsworth ve diğ. (2006) tarafından elde edilen % 10,98 kuru madde miktarı ile çalışmamızda ürettiğimiz yoğurtların % 12,16-11,71 aralığında değişen kuru madde miktarının benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Diğer taraftan depolama süresince kurumadde miktarında gözlenen artışın normal olduğu bildirilmektedir (Akalin, 1993). Çalışmamızda da, depolamanın 21. gününde D grubunun kuru madde miktarında artış gözlenmiş ancak bu değişim istatistik olarak önemli bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

#### **4.4.2.2. Yağ Miktarı**

Endüstriyel boyutta yapılan üretimler göz önüne alındığında yasal zorunluluklar ve işletme ekonomisi düşünülerek yoğurda işlenecek sütün yağ içeriğinin standardize edilmesi gerekmektedir (Üçüncü, 2005). TS 1330 Yoğurt Standardı'na göre yoğurtların yağ içerikleri en az % 3,8, 3,0, 1,5 ve 1,5'ten az olmak üzere sırasıyla tam yağlı, yağlı, yarım yağlı, yağsız (yavan) olmak üzere 4 farklı sınıfa ayrılmaktadır (Anonim, 1999).

Kavas ve diğ. (2003), % 100 keçi sütü, % 70 keçi sütü + % 30 inek sütü, % 50 keçi sütü + % 50 inek sütü kullanılarak ultrafiltrasyon ve süt tozu ilavesi uygulanarak üretilen 6 farklı yoğurt grubundan ultrafiltrasyon uygulanan gruplarda yağ miktarının % 3,80-3,50, süt tozu ilave edilen gruplarda ise % 3,60-3,50 olduğu belirtilmiştir.

Farnsworth ve diğ. (2006) tarafından keçi sütü kullanılarak üretilen yoğurtların % 3,2 Güler ve Gürsoy Balcı (2011) tarafından üretilen yoğurtlarda ise bu değerlerin % 3,9 olduğu bildirilmiştir.

Atamer ve diğ. (2004) tarafından yağ oranı % 3,5'e ayarlanmış keçi sütü ile üretilen set yoğurtların yağ içeriğinin % 3,83 olduğu bildirilirken, süzme yoğurtlarda bu değerlerin % 8,13 olduğu belirtilmiştir. Wang ve diğ. (2012) ürettikleri keçi sütü yoğurtlarının yağ içeriğinin % 2,81 olduğunu bildirmiştir. Senaka Ranadheera ve diğ. (2012) tarafından üretilen sade keçi yoğurtlarında ise % 5,37 olan yağ içeriğinin meyve suyu ilaveli yoğurtlarda % 3,70-4,90 arasında değiştiği belirtilmiştir.

Bu çalışmada % 3,5 yağ oranına sahip süt ile üretilen yoğurtlarda depolamanın 1. gününde yağ oranı K ve D grupları için sırasıyla % 3,2- 3,18 olarak bulunmuştur. Yoğurtların yağ içeriklerinde depolama süresi boyunca önemli bir değişim gözlenmemiştir. Yoğurtların yağ miktarlarının genel olarak literatürde belirtilen benzer araştırmaların yağ miktarları ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Üretilen yoğurtların yağ içerikleri Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Tebliği (Anonim 2009b) ve TS 1330 Yoğurt Standardı'nda belirtilen değerlere uygunluk göstermekte ve tam yağlı yoğurt sınıfına girmektedir (Anonim, 1999).

#### **4.4.2.3. Titre Edilebilir Asitlik**

Yoğurtların raf ömrünün belirlenmesinde önemli kriterlerden biri olan asitlik, başta yoğurtlarda istenilen karakteristik tadın oluşmasından sorumlu olan laktik asit olmak üzere organik asitler tarafından oluşmaktadır (Atamer ve diğ., 2004).

Kavas ve diğ. (2003) tarafından keçi sütü ve farklı konsantrasyonlarda keçi ve inek sütü ile üretilen yoğurtların depolama süresince titrasyon asitliğinin arttığı belirtilmiştir. Araştırmacılar tarafından depolama süresi boyunca titrasyon asitliğinin 30,96-48,33 °SH arasında değiştiği gözlenmiştir.

Atamer ve diğ. (2004) tarafından keçi sütü kullanılarak üretilen set tipi yoğurtlarda depolamanın 1. gününde 56,04 °SH olarak gözlenen titrasyon asitliği değerinin, depolamanın 30. gününde 66,43 °SH olduğu, yine keçi sütü ile üretilen süzme yoğurtların ise deolamanın 1. gününde 108,91 °SH olan titrasyon asitliği değerinin 60. günde 118,89 °SH olduğu bildirilmiştir. Depolama süresi boyunca ilk 15 günlük süreçte artış gösteren laktik asit miktarında sonraki dönemde önemli bir değişimin meydana gelmediği, depolamanın 1. gününde % 0,93 olan laktik asit miktarının depolamanın 30. gününde % 1,04 olduğu gözlenmiştir. Farnsworth ve diğ. (2006) tarafından üretilen keçi yoğurtlarında ise laktik asit miktarı % 0,78 olarak bulunmuştur. Şenel ve ark. (2011) tarafından keçi sütü kullanılarak üretilen süzme yoğurtların titrasyon asitliğinin depolamanın 1. gününde 108,91 °SH olduğu belirtilirken, bu değer 45 günlük depolama süresi sonunda 119,06 °SH olarak belirlenmiş, süzme yoğurtların set tipi yoğurtlardan daha yüksek titrasyon asitliğine sahip olduğu, başlangıç yoğurtlarında ise 56,04 °SH titrasyon asitliği gözlendiği

bildirilmiştir. Çalışmamızda sadece işletme kültürü kullanarak üretilen K grubu yoğurtların titrasyon asitliğinin depolamanın 1. gününde 45 °SH; % 1 işletme kültürü yanında deneme kültür kombinasyonu kullanılarak üretilen D grubu yoğurtların ise 44 °SH olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 21. gününde ise bu değerler K ve D grupları için 41,25-46,5 °SH olarak gözlenmiştir. Yoğurtlarda depolama süresince belirtilen titrasyon asitliği değerlerinin diğer araştırmacılar tarafından belirtilen değerlerden daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Wang ve diğ. (2012) tarafından keçi sütü yoğurtlarında başlangıçta % 0,86 olan titrasyon asitliğinin depolama ile % 0,90'a yükseldiği; özellikle depolamanın ilk iki haftasında titrasyon asitliğinin arttığı fakat sonraki haftalarda önemli bir değişim olmadığı belirtilmiştir. Senaka Ranadheera ve diğ. (2012) tarafından üretilen sade keçi yoğurtların titrasyon asitliğinin ise % 1,39 olduğu belirtilmiştir.

*Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* arasında bilinen simbiyotik ilişkide *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* pH 5,5'e kadar hızla gelişerek ve laktozu fermente ederek laktik asit oluşumunu başlatır. Laktobasiller ise süt proteinleri üzerindeki proteolitik aktivite ve aminoasit oluşumu ile streptokok gelişimini teşvik etmektedir. *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* gelişimi için esansiyel olan aminoasitler bu sayede süt içerisinde serbest kalarak laktik asit oluşumunu desteklemektedir (Walstra ve diğ., 1999; Tamime ve Robinson 2001). İçerikteki protein, fosfat ve sitrat gibi tamponlama kapasitesini etkileyen yapılarda süt ürünlerinde titrasyon asitliğinin yükselmesine neden olmaktadır. Diğer taraftan üründe kuru madde miktarı artışı su aktivitesinin azalmasına, dolayısıyla başlatıcı kültürlerin metabolik aktivitelerinin azalmasına neden olmaktadır. Bu durum da ürünün asitliğini etkilemektedir (Tamime ve Robinson, 2001).

Çalışmamızda üretilmiş olan K grubu yoğurtların laktik asit miktarının depolamanın 1. gününde % 1,01; D grubu yoğurtların ise % 0,99 olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın 21. gününde ise K ve D gruplarının asitlikleri sırasıyla % 0,93 ve 1,05 olarak tespit edilmiştir.

Çalışmadan elde edilen asitlik değeri sonuçlarının Kavas ve diğ. (2003) tarafından bildirilen değerlerle benzerlik gösterdiği, Farnsworth ve diğ. (2006) tarafından bildirilen % 0,78 değerinden daha yüksek olduğu, ancak diğer araştırmacılar tarafından bildirilen değerlerden biraz düşük seviyede olduğu belirlenmiştir (Wang ve



diğ. 2012; Senaka Ranadheera ve diğ., 2012). Diğer taraftan yoğurtların titrasyon asitliği değerlerinin TS 1330 Yoğurt Standardı'nda belirtilen yoğurtların titrasyon asitliği sınır değerleri olan % 0,80-1,6 değer aralığında olduğu kaydedilmiştir (Anonim, 1999).

#### 4.4.2.4. pH

Yoğurtta istenilen tat ve aromanın oluşumu için ilave edilen LAB'nin çalışması endüstriyel açıdan en verimli şekilde üretimin sağlanabilmesi için mümkün olduğunca kısa sürede asitliğin istenilen düzeye düşmesi ve ürünün pH değerinin istenilen seviyede olması büyük önem taşımaktadır.

Martín Diana ve diğ. (2003) tarafından keçi sütü ile *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarını içeren YF-3331 başlatıcı kültür kullanılarak üretilen set tipi fermente ürünün fermantasyon süresinin, düşük asitliğe sahip ABT-2 başlatıcı kültürü ile üretilen fermente ürüne göre daha kısa olduğu, ürünlerin 3 haftalık depolama süresi boyunca pH değerlerinde önemli bir değişimin olmadığı belirtilmiştir.

Kavas ve diğ. (2003) tarafından farklı konsantrasyonlarda inek ve keçi sütü kullanılarak üretilen yoğurtların 14 günlük depolama süresince pH'sının 4,15-4,50 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Atamer ve diğ. (2004) tarafından keçi sütünden üretilen set tipi yoğurtlarda depolamanın 1. gününde 4,39 olarak belirtilen pH değeri, depolamanın 30. gününde 4,10 olarak belirtilmiştir. Farnsworth ve diğ. (2006) tarafından üretilen keçi sütü yoğurtlarında pH'nın 4,45 olduğu gözlenirken, mikrobiyel transglutaminz ilavesi ile bu değer 4,38 olarak belirlendiği bildirilmiştir. Herrero ve Requena (2006) peyniraltı suyu proteinleri ilavesi ile keçi sütü kullanarak ürettikleri yoğurtların pH'sının depolamanın 1. gününde 4,31-4,48 iken, depolamanın 28. gününde 4,30-4,48 olduğunu, depolama süresince pH değerlerinde istatistik olarak önemli bir değişimin olmadığını belirtmiştir. Vargas ve diğ. (2008) tarafından % 75 ve % 100 keçi sütü kullanılarak üretilen yoğurtların inkübasyon sonrasında pH 4,4-4,6 arasında soğuk depolamaya alındığı, ancak depolamanın 1. gününde yoğurtların pH değerinin 4,1 olarak gözlemlendiği belirtilmiştir.

Eissa ve diğ. (2010) tarafından yapılan çalışmada ise diğer çalışmaların aksine 15 günlük depolama süresince keçi yoğurtlarının pH'larının önemli derecede düşüş gösterdiği, 5,71 olan başlangıç pH'sının depolama süresi sonunda 2,61 olduğu ortaya konmuştur.

Başka bir araştırmada ise CH-1 ve YF-3331 olmak üzere iki farklı başlatıcı kültür kullanılarak üretilen keçi yoğurtlarında sırasıyla 172 ve 185 dakikalık fermantasyon süreci sonrasında pH'nın 4,65 olduğu, CH-1 kültürünün istatistik olarak önemli derecede fermantasyon sürecini kısalttığı belirtilmiştir (Güler ve Gürsoy Balcı, 2011). Küçükçetin ve diğ. (2011), 15 günlük depolama süresince keçi yoğurtlarının pH'sının düştüğünü, 15. günde sadece keçi sütü, sadece inek sütü ve inek sütüyle keçi sütünün karışımını kullanarak ürettikleri yoğurtların pH'sının 4,06-4,22 arasında değiştiğini belirtmiştir

Wang ve diğ. (2012) tarafından üretilen keçi yoğurtlarında başlangıçta 4,23 olan pH'nın depolama ile birlikte 4,08'e düştüğü, depolama süresi boyunca yoğurtlarda pH bakımından istatistik olarak önemli bir değişimin olduğu kaydedilmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada ise depolamanın 1. gününde 4,38 olarak belirtilen keçi yoğurdu pH'sının depolama süresi sonunda 4,24'e düştüğü belirtilmiştir (Senaka Ranadheera ve diğ., 2012)

Bu çalışmada ticari kültürle üretilen yoğurtlarda süte kültür inokülasyonu yapıldıktan sonra 42 °C'de 3 saat inkübasyondan sonra pH'nın 4,5'e düştüğü gözlenirken, % 1 işletme kültürü ve  $10^7$ - $10^8$  KOB/ml olacak şekilde deneme kültür kombinasyonu inoküle edilen deneme grubunda yaklaşık 165 dk da pH'nın 4,5'e düştüğü gözlenmiştir. Depolamanın başlangıcında 4,5 olarak belirlenen pH'nın, depolamanın 1. gününde kontrol grubu yoğurtlarda 4,43, deneme grubu yoğurtlarda ise 4,15 olduğu gözlenmiştir. Üretilmiş olan yoğurtlarda gözlenen bu hızlı pH düşüşü çeşitli araştırmacılar tarafından da belirtildiği gibi keçi sütünün asitliğinin inek sütüne göre daha hızlı gelişmesine bağlanabilir (Rysstad ve Abrahamsen, 1983; Kurmann, 1986). Diğer taraftan deneme grubunda yüksek koagülasyon özelliğine sahip olan deneme kültür kombinasyonunun kullanılmış olması bu grubun pH'sının daha düşük olmasına neden olmuştur.

#### 4.4.2.5. Proteoliz

Yoğurtta tirozin ve bazı düşük molekül ağırlıklı peptitlerin varlığı proteolitik parçalanmanın bir göstergesidir. Yoğurtta gereğinden fazla gözlenen proteoliz aynı zamanda acı tadın oluşmasında da etkili rol oynarken, tat ve aroma oluşumuna katkı sağlayan aminoasitler aynı zamanda yoğurdun temel aroma maddesi olan asetaldehit oluşumunda başlıca kaynak olarak kullanılmakta (Haenlein, 1995), oluşan bu yoğun acılık az da olsa asetaldehit ile dengelenebilmektedir (Mistry ve Hassan, 1992). Acılık olarak belirtilen tat bozukluğunun belirlenmesinde proteoliz sonucu açığa çıkan toplam aminoasit miktarının tirozin eşdeğeri esas alınmaktadır. Diğer taraftan fermantasyon süresi boyunca serbest NH<sub>3</sub> gruplarının miktarı artmakta (Nielsen ve diğ., 2001; Leclerc, 2002), yüksek proteolitik aktivite de açığa çıkan serbest NH<sub>3</sub> grupları ve peptitler mikroorganizmaların büyüme faktörlerine katkı sağlamaktadır (Nielsen ve diğ., 2001).

Keçi sütü ile üretilmiş set tipi yoğurtlarda depolamanın 1., 15. ve 30. günlerinde sırasıyla belirlenen tirozin miktarının 0,116, 0,144, 0,15 mg/g olduğu Atamer ve diğ. (2004) tarafından belirtilirken, Karademir ve diğ. (2002) tarafından kuru maddesi farklı yöntemlerle arttırılarak üretilen keçi yoğurtlarının tirozin miktarlarının 0,260-0,347 mg/g arasında değiştiği bildirilmiştir. Güler (2007) tarafından keçi yoğurtlarında ortalama 0,133 mg/g olarak belirtilen tirozin miktarı; tuzlu yoğurtlarda depolamanın 1. gününde 0,122 mg/ml olarak belirlenmiş ve depolama süresi boyunca artış göstermiştir. Depolamanın 7. ve 14. günlerinde 0,16 mg/g olan tirozin miktarı depolamanın 60 ve 90. günlerinde 0,19 ve 0,245 mg/g olarak belirlenmiştir.

Keçi sütünden üretilen süzme yoğurtlarda 0,22 mg/g olarak belirtilen başlangıç tirozin miktarının depolama süresi sonunda 0,24 mg/g olarak tespit edildiği belirtilmiştir. Süzme işleminden önce ise yoğurtların 0,116 mg/g tirozin miktarına sahip olduğu gözlenmiştir (Şenel ve diğ., 2011).

*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*'dan daha yüksek proteolitik aktiviteye sahip olmakla birlikte, yoğurt bakterilerinin genel olarak düşük proteolitik aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir (Dutta ve diğ., 1971). Yoğurtlarda tirozin miktarının 0,5 mg/g'den fazla olması acılığın başlamasına neden olmaktadır (Asperger, 1977).

Bu çalışmada depolamanın 1. gününde K ve D gruplarında tirozin miktarları sırasıyla 0,373 ve 0,613 mg/g olarak tespit edilmiştir. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde yoğurtlarda tirozin miktarlarının biraz yüksek olduğu, sadece K grubu değerlerinin Karademir ve diğ. (2002) tarafından bildirilen değerlere yakınlık gösterdiği belirlenmiştir. Deneme grubuna ilave edilen kültür kombinasyonunun proteolitik aktivitesinin yüksek olması D grubunda depolama süresi boyunca daha yüksek tirozin miktarlarının tespit edilmesine neden olurken, depolama süresi boyunca diğer araştırmacılar tarafından belirtilenin aksine tirozin miktarlarında önemli bir değişiklik olmamıştır. Diğer taraftan D grubunda belirlenen tirozin miktarlarının acılık başlangıcı olarak kabul edilen 0,5 mg/g değerinden biraz daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

#### **4.4.2.6. Su Salma**

Pıhtı sıklığı yoğurtta en önemli fiziksel özelliklerden birisi olup, toplam kuru madde, protein içeriği, uygulanan ısıl işlem, homojenizasyon, asitlik, depolama sıcaklığı ve yoğurt bakterilerinin aktivitesi gibi çeşitli parametrelerden etkilenmektedir (Rasic ve Kurman, 1978; Lucey, 2004). Yoğurdun tekstürel ve fiziksel özellikleri üzerine süt tozu, peynir altı suyu proteinleri gibi süt ürünlerinin etkisi bilinmekle birlikte yoğurtta sıcaklık değişikliği ya da fiziksel değişikliklere bağlı olarak serum ayrılması veya diğer adıyla sineresis gibi problemler gözlenmektedir (Yüksel ve Erdem, 2010). Yoğurtlarda karşılaşılan su salma miktarını özellikle toplam kurumadde, toplam protein içeriği ve kullanılan süt çeşiti etkilemektedir (Domagala, 2009).

Martín Diana ve diğ. (2003) tarafından keçi sütünden üretilmiş fermente ürünlerde su salma miktarının yüksek oranda gözlendiği, ancak peyniraltı suyu proteinleri ilavesi ile bu oranın azaltılabildiği belirtilmiştir. Farnsworth ve diğ. (2006) tarafından keçi sütü kullanılarak üretilen yoğurtların su salma miktarının yüksek olduğu ancak bu durumun mikrobiyel transglutaminaz ilavesi ile azaltılabileceği bildirilmiştir. Vargas ve diğ. (2008) tarafından yapılan farklı bir çalışmada ise depolama süresince su salma miktarının arttığı, % 75 ve % 100 keçi sütü ile üretilen yoğurtlarda sırasıyla % 22,5 ve % 19 oranında su salma gözlendiği belirtilmiştir.

Wang ve diğ. (2012) tarafından % 0,4 oranında peyniraltı suyu proteini ilavesi ile üretilen keçi yoğurtlarında su salma miktarının en düşük seviyede olduğu belirtilmiştir. Senaka Ranadheera ve diğ. (2012) tarafından üretilen sade keçi yoğurtlarının su salma miktarının meyve suyu ilaveli yoğurtlardan istatistik olarak önemli derecede daha düşük olduğu belirtilmiştir.

Bu çalışmada üretilen deneme grubu yoğurtlarının su salma miktarının depolama süresince kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Depolamanın 1. gününde K grubunda % 6,52; D grubunda ise % 5,42 oranında su salma miktarı tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca en yüksek su salma miktarı 21. günde % 14,31 ile K grubunda gözlenmiştir. Araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda genel olarak su salma değerlerinin çalışmamızda elde edilen değerlerden çok yüksek olduğu, bizim yoğurtlarımızda depolamanın son gününde bile gözlenen en yüksek su salma miktarının araştırmacılar tarafından belirtilen değerlerden düşük olduğu gözlenmiştir.

Keçi sütünün düşük tamponlama kapasitesine sahip olması nedeniyle asitliğinin yüksek olması, kazein içeriğinin ise inek sütüne oranla daha düşük olması beraberinde çeşitli reolojik problemleri de getirmektedir (Rysstad ve Abrahamsen, 1983; Vegarud ve diğ., 1999). Karşılaşılan bu problemleri önlemek adına özellikle tekstürel karakterin iyileştirilmesi için endüstriyel boyutta filtreleme işlemleri kullanılmakta, ürüne çeşitli stabilizatörler eklenmekte, EPS üretimine sahip LAB'den yararlanılmaktadır (Özer ve diğ., 1998; Duboc ve Mollet, 2001). Çalışmamızda da D grubu yoğurt üretiminde kullanılan deneme kültür kombinasyonunda EPS üretimi yüksek olan bakterilerin kullanılmış olmasının, su salma miktarının daha düşük seviyede kalmasına sebep olduğu düşünülebilir. Diğer taraftan depolama süresi boyunca jel matriksinin sürekli daralması nedeniyle yoğurtların su salma miktarında artış gözlenmektedir (Tamime ve Robinson 2001). Wu ve diğ. (2000) tarafından yoğurt yapısındaki protein ve yağ globüllerinin su tutma kapasitesi üzerinde önemli etkisi olduğu bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada yoğurt üretiminde % 3,5 yağ içerisine sahip keçi sütü kullanılması ürettiğimiz yoğurtlarda yağ içeriğinin yaklaşık olarak % 3,2 oranında olmasının da su salma miktarlarını azaltmış olabileceği düşünülmektedir.

#### 4.4.3. Duyusal Değerlendirme

Martín Diana ve diğ. (2003) tarafından keçi sütünden üretilen fermente süt ürününe peyniraltı suyu proteinleri ilavesi ile duyusal özelliklerinin iyileştirildiği, sadece keçi sütü ile üretilen ürünün akışkan yapısı ve alışılmış yoğurt tadına uygun olmaması nedeniyle kabul edilebilirliğinin düşük olduğu belirtilmiştir. Kavas ve diğ. (2003) süt tozu ilave edilen yoğurtların tat bakımından panalistler tarafından daha fazla kabul edilebilirliğe sahip olduğunu, ultrafiltrasyon uygulanan yoğurtların aroma ve yapı bakımından zayıf olduğunu ancak görünüş bakımından ultrafiltrasyon uygulanan yoğurtların daha çok beğenildiğini belirtmiştir. Diğer taraftan keçi ile keçi ve inek sütü karışımından üretilen yoğurtların kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri aynı olsa bile, duyusal özelliklerin Türk halkının ürün seçiminde önemli bir rol oynadığı, bu nedenle ultrafiltrasyon uygulanan sütlerle üretilen yoğurtların daha az beğeni kazandığı, üretimde sadece keçi sütü ya da % 50 keçi sütü + % 50 inek sütü karışımının kullanılabilceği belirtilmiştir. Vargas ve diğ. (2008) tarafından yürütülen farklı bir çalışmada inek sütü ile farklı oranlarda keçi sütü karıştırılarak ve sadece keçi sütü kullanılarak üretilen yoğurtlardan % 100 keçi sütü ile üretilenin daha asidik olduğu ve tipik yoğurt tat ve aromasına sahip olmadığı belirtilmiştir.

Atamer ve diğ. (2004) tarafından üretilen set tipi keçi yoğurtlarının tat ve aroma puanlarında depolama süresince azalma olduğu ve yoğurtların depolamanın 30. gününde tat bakımından 'yetersiz (bozuk)' olarak ifade edildiği bildirilmiştir. Şenel ve diğ. (2011) keçi sütünden üretilen süzme yoğurtların tat ve aroma bakımından yetersiz olduğu, ancak depolamanın 1. gününde daha yüksek puanlara sahip olduğu belirtilirken, 45 günlük depolama süresi boyunca tat ve aroma değerlerinde düşüş gözlenmiştir.

Senaka Ranadheera ve diğ. (2012) tarafından üretilen meyve suyu ilaveli keçi yoğurtlarının, keçi sütünden gelen aroma ve tadın baskılanması nedeniyle panelistler tarafından daha yüksek puan aldığı ve genel kabul edilebilirliğinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir.

Kavas ve diğ. (2003) tarafından da belirtildiği gibi damak zevki ve alışkanlıklar Türk halkının ürün seçiminde önemli bir rol oynamaktadır. Aynı zamanda keçi yoğurdunun daha az su salması ve daha beyaz renkli olması tüketici tarafından tercih sebepleri arasında yer almaktadır. Çalışmamız da üretilen yoğurtların depolama süresi

boyunca panelistler tarafından kabul edilebilir aralıkta olduğu, ancak deneme kültür kombinasyonu ile üretilen D grubunun renk bakımından kontrol grubuna göre daha beyaz olarak nitelendirildiği bildirilmiştir.

Keçi sütü ile üretilen yoğurtlarda ürüne karakteristik tadını veren asetaldehit miktarının az olması (Rysstad ve diğ., 1990), alışılmış yoğurt tadından biraz daha farklı bir aromanın oluşmasına neden olsa da, keçi sütünün yüksek miktarda kısa zincirli yağ asitlerini içermesi, süt ürünlerine diğer bir karakteristik aroma kazandıran kaprinin oluşmasında etkilidir (Karademir ve diğ., 2002). Karakteristik keçi sütü tadının tüketici tarafından çok fazla tercih edilmemesi (Slacanac ve diğ., 2010), meyve suyu gibi istenmeyen tadı maskeleyici katkıların kullanılmasını gerektirmiştir. Karademir ve ark. (2002) ile Slacanac ve ark. (2010) tarafından da belirtildiği gibi keçi sütünün kendine has tat ve aromasının üretilen yoğurtlarda da baskın olması sebebiyle tüketimi azalmaktadır. Ürettiğimiz yoğurtlarda depolamanın 1. gününde algılanan baskın keçi tadının depolama süresince azaldığı panelistler tarafından bildirilmiştir. Panelistler tarafından incelenen yoğurtların tat, koku, kıvam ve görünüşünün depolama süresince uygun olduğu, tat bakımından 21. günde her iki grubun da beğenisinin azaldığı ancak genel kabul edilebilirliğinin yüksek olduğu belirlenmiştir.

#### 4.5. Sonuç

Süt ve süt ürünleri yüzyıllardır kullanılan önemli gıda maddeleridir. Oldukça uzun bir geçmişe sahip olmasına rağmen özellikle son yıllarda teknolojinin gelişmesi, tüketici bilinci ve isteklerinin artması, fermente süt ürünlerinin sağlık üzerine yarattığı olumlu etkileri belirlemek adına artan çalışmalar ürün çeşitliliğinin artmasını sağlamıştır. Ülkemizde özellikle son yıllarda artan ürün çeşitliliğine bağlı olarak fermente süt ürünlerinin üretimi ve tüketimi de giderek artmaktadır.

Sağlık üzerine olumlu etkileri gözlenen probiyotik kültürler aynı zamanda endüstriyel açıdan istenilen reolojik, organoleptik ve tekstürel özelliklere sahip ürünlerin eldesinde de önemlidir. *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinden oluşan başlatıcı kültürler ile üretilen yoğurt özellikle Türk beslenme kültüründe önemli bir yere sahiptir. Yurt dışında farklı ticari markalar tarafından satılan probiyotik ilaveli ürünler ülkemiz pazarında da giderek önemli bir pay

kazanmaktadır. Bu nedenle yeni probiyotik suşların bulunması amacıyla yapılan çalışmalar hız kazanmıştır. Ancak fermente süt ürünlerinin yaygın olarak tüketildiği ülkemizde başlatıcı veya destek kültür üretimi alanında boşluklar bulunmakta, ticari kültür üretimine yönelik bir işletmenin bulunmadığı ülkemizde, fermente ürünlerin üretiminde kullanılan ticari başlatıcı kültürler yurtdışından ithal edilmekte ve bu anlamda ekonomik açıdan oldukça büyük kayıplar meydana gelmektedir. Diğer taraftan zengin bir doğal floraya sahip olmamıza rağmen ithal edilen ticari kültürler nedeniyle sahip olduğumuz bu floradan yeterince yararlanılamamaktadır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde; ülkemizin farklı illerinden toplanmış geleneksel olarak üretilmiş olan yoğurt örneklerinden LAB izole edilerek bu izolatların başlatıcı kültür olabilmeleri için çeşitli teknolojik ve probiyotik özellikleri incelenmiştir. Teknolojik özellikler açısından izolatlar incelendiğinde 3,05-4,95 pH aralığında değişen oranlarda sütü koagüle ettikleri, yüksek oranda laktik asit ve asetaldehit üretim özelliklerine sahip oldukları belirlenmiştir. 49 izolatin proteolitik aktivitesi 0,10-0,27 mg/ml arasında; ekzopolisakkarit üretimi ise 0,08-0,54 mg/ml arasında değişen oranlarda bulunmuştur. Diğer taraftan yapılan bu araştırma ile ülkemiz yoğurtlarından izole edilmiş 382 adet LAB'si ile ileride yapılacak daha farklı çalışmalar için geniş bir kültür kaynağı oluşturulmuştur.

İncelenen tüm probiyotik özellikler açısından, La4B, La18B, La22B, La27C, Lc3A, Lc14C, Lc37C, Lr12A, Lr26A, Lr31A nolu izolatların ekzopolisakkarit üretimi açısından; La27A, La27C, La31A, La36B, Lj27C, Lj31E, Lr31A, Lr 45 nolu izolatların % 0,4 fenol toleransı bakımından ve La7F, La20A, La29B, La31B, La36A, Lc3A, Lc14C, Lc29B, Lc37C, Lr12A, Lr26A nolu izolatların ise  $\beta$  galaktozidaz aktivitesi bakımından üstün özelliklere sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Yapılan araştırmanın son aşamasında en iyi teknolojik ve probiyotik özelliklere sahip izolatlar arasından Lc14C, Lc37C, Lr12A ve Lr26A kodlu suşlar seçilerek bu izolatların teknolojik üretime uygunluğunu belirlemek amacıyla keçi sütü kullanılarak yoğurt üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen deneme grubu yoğurtlarının, sadece ticari kültür ile üretilen yoğurtlarla kimyasal özellikler bakımından benzerlik gösterdiği, ilave edilen probiyotik olma potansiyeline sahip kültürlerin 21 günlük depolama süresince canlılıklarını korudukları ancak depolamanın 21. gününde gözlenen proteoliz ve tatta



oluşan acılık nedeniyle D grubu yoğurtlarının raf ömrünün 14 olmasının daha uygun olacağı düşünülmektedir.

Elde edilen bu veriler ve bulgular neticesinde ileride yapılacak çalışmalarla bazı teknolojik ve probiyotik olma özellikleri incelenen 49 adet suşun daha ayrıntılı çalışılması ile diğer teknolojik ve probiyotik olma özelliklerinin belirlenmesi planlanmaktadır. Ayrıca araştırmada kullanılan suşların moleküler tanı yöntemleri kullanılarak tanımlanması hedeflenmektedir.

Farklı özellikteki izolatlar seçilerek tek tek ve kombinasyonlar halinde daha çok sayıda deneme grubu yoğurtlarının üretilmesi en uygun kombinasyonun seçilmesi açısından önemlidir. Diğer taraftan üretilecek deneme grubu yoğurtlarda organik asit ve uçucu aroma bileşenlerinin tespiti önemlidir. En uygun kültür kombinasyonunun seçilmesinden sonra sütün standardizasyonu, kültürün inokülasyon miktarı, inkübasyon sıcaklığı ve süresi gibi parametrelerin optimizasyonu ileride endüstriyel boyutta üretimin gerçekleştirilebilmesi açısından gereklidir.

## KAYNAKLAR

- Abbasi, H., Mousavi, M.E., Ehsani, M.R., D-Jomea, Z.E., Vaziri, M., Rahimi, J., Aziznia, S., 2009. Influence of starter culture type and incubation temperatures on rheology and microstructure of low fat set yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 62, 549-555.
- Abdelbasset, M., Djamila, K., 2008. Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk "Raib". *African Journal of Biotechnology*, 7, 2908-2914.
- Abd El-Gawad, I.A., El-Sayed, E.M., Hafez, S.A., El-Zeini, H.M., Saleh, F.A., 2005. The hypocholesterolaemic effect of milk yoghurt and soy-yoghurt containing bifidobacteria in rats fed on a cholesterol-enriched diet. *International Dairy Journal*, 15, 37-44.
- Abdullah, S.A., Osman, M.M., 2010. Isolation and identification of lactic acid bacteria from raw cow milk, white cheese and rob in Sudan. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9, 1203-1206.
- Abrahamsson, T.R., Jakobsson, T., Bottcher, M.F., Fredrikson, M., Jenmalm, M.C., Bjorksten, B., 2007. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119, 1174-1180.
- Adlerberth, I., Ahrne, S., Johansson, M.L., Molin, G., Hanson, L.A., Wold, A.E., 1996. A mannose-specific adherence mechanism in *Lactobacillus plantarum* conferring binding to the human colonic cell line HT-29. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 7, 2244-2251.
- Agarwal, K.N., Bhasin, S.K., 2002. Feasibility studies to control acute diarrhoea in children by feeding fermented milk preparations, Actimel and Indian Dahi. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56, 56-59.
- Agerbaek, M., Gerdes, L.U., Richelsen, B., 1995. Hypocholesterolaemic effects of a new product in healthy middle-aged men. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49, 346-352.
- Akalın, S., 1993. Investigations on the Production of Fermented Milk Products Like Yoghurt and Determination of Some Properties. Doktora tezi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, İzmir, Türkiye.
- Akalın, A.S., Fenderya, S., Akbulut, N., 2004. Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharids during refrigerated storage. *International Journal of Food Science*, 39, 613-621.
- Akgün, A., Yazıcı, F., 2011. Geleneksel Bafra Manda (Kömüş) Yoğurdu. Samsun Sempozyumu, 13-16 Ekim, 2011, Samsun.
- Akın, N., 2006. *Modern Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi*. Damla Ofset, Konya. 456 s.
- Akolkar, S.K., Sajgure, A.D., Lele, S.S., 2006.  $\beta$ -Galactosidase from *Lactobacillus acidophilus* isolated from fermented ragi (Eleusine coracana). *Indian Journal of Biotechnology*, 5, 184-188.
- Akpınar, D., Başyigit Kılıç, G., 2012. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen antifungal bileşenler. *Gıda*, 37, 1, 47-54.
- Alferez, M.J.M., Barrionuevo, M., Lopez-Aliaga, I., Sanz Sampelayo, M.R., Lisbona, F., Robles, J.C., Campos, M.S., 2001. Digestive utilization of goat and cow milk fat in malabsorption syndrome. *Journal of Dairy Research*, 68, 451-461.

- Alichanidis, E., Polychroniadou, A., 1995. Special features of dairy products from ewe and goat milk from the physicochemical and organoleptic point of view. Production and Utilization of Ewe and Goat Milk. IDF 41, Square Vergote, Brussels.
- Aloğlu, H., 2005. Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Kullanımı ile Kolesterolün Azaltılması. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, Türkiye.
- Altieri, C., Speranza, B.M.A., Del Nobile, M.A., Sinigaglia, M., 2005. Suitability of bifidobacteria and thymol as biopreservatives in extending the shelf life of fresh packed plaice fillets. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 1294-1302.
- Alvarez Olmos, M.I., Oberhelman, R.A., 2001. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. *Clinical Infection Diseases*, 32, 1567-1576.
- Ambrosoli, R., Di Stasio, L., Mazzoco, P., 1988. Content of  $\alpha$ -s-1 casein and coagulation properties in goat milk. *Journal Dairy Science*, 71, 24-28.
- Ammor, M.S., Mayo, B., 2007. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Science*, 76, 138-146.
- Andersson, H., Asp, N.G., Bruce, A., Roos, S., Wadstrom, T., Wold, A.E., 2001. Health effects of probiotics and prebiotics A literature review on human studies. *Food Nutrition & Research*, 45, 58-75.
- Annik, H., Shchepetova, J., Kullisaar, T., Songisepp, E., Zilmer, M., Mikelsaar, M., 2003. Characterization of intestinal *lactobacilli* as putative probiotic candidates. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 403-412.
- Anonim a, Erişim tarihi, 10 Mayıs 2012, <http://www.dairyscience.info/cheese-starters/49-cheese-starters.html>.
- Anonim b, Erişim tarihi, 12.05.2011, [http://tr.wikipedia.org/wiki/Epitel\\_doku](http://tr.wikipedia.org/wiki/Epitel_doku)
- Anonim c, Erişim tarihi 24.11.2012, [http://tr.wikipedia.org/wiki/%C4%B0nsan\\_sindirim\\_sistemi](http://tr.wikipedia.org/wiki/%C4%B0nsan_sindirim_sistemi)
- Anonim, 1989. TS 1330. Yoğurt Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, 1998. ILSI: The Status quo of Functional Foods and The Subjects to be Discussed, International Life Sciences Institute (ILSI) Japan Study Committee of Functional Food, 46 p.
- Anonim, 1999. Yoğurt Standardı. TS 1330. Türk Standartlar Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, 2002. Çiğ süt Standardı, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, 2007. Dokuzuncu Kalkınma Planı 2007-2013, Hayvancılık, Özel İhtisas Raporu, T.C. Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı.
- Anonim, 2009a. FB 1046, 2009. Probiotic Market- Advanced Technologies and Global Market (2009 - 2014), By: markets and markets.com. Publishing Date: September 2009. Report Code: FB 1046. [accessed on March 26, 2012]. URL: [www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/probiotic-market-advanced-technologies-and-global-market-69.html](http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/probiotic-market-advanced-technologies-and-global-market-69.html)
- Anonim, 2009b. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, Tebliğ no: 2009/25.
- Anonim, 2010a. ASÜD Ambalajlı Süt ve Süt Ürünleri Sanayicileri Derneği, Dünya ve Türkiye Süt Endüstrisi Raporu, Ankara.

- Anonim, 2010b. TEPGE Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, 2011-2012 Süt ve Süt Ürünleri Durum ve Tahmin, Yayın No: 191, Ankara.
- Anonim, 2010c. TÜİK Türkiye İstatistik Kurumu, Süt Ürünleri Üretim İstatistikleri, Sayı: 8, Ankara.
- Anonim, 2012. TÜİK Türkiye İstatistik Kurumu, Süt Ürünleri Üretim İstatistikleri, Sayı: 10873, Ankara.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 1999. Maryland, USA:AOAC International 5th Revision.
- Argyri, A.A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K.A.G., Tsakalidou, E., Nychas, G.J.E., Panagou, E.Z., Tassou, C.C., 2013. Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. *Food Microbiology*, 33, 2, 282-291
- Aslım, B., Beyatlı, Y., Halkman, K., 2000. Yoğurt starter kültür metabolitlerinin inhibisyon etkisi. *Turkish Journal of Biology*, 24, 65-78.
- Aso, Y., Akazan, H., 1992. Prophylactic effect of a *Lactobacillus casei* preparation on the recurrence of superficial bladder cancer. *Urologia Internationalis*, 49, 125-129.
- Asperger, H., 1977. Applicability of analytical methods for the assesment of yogurt quality. *Dairy Science Abstract*, 39, 1, 73.
- Asteri, I.A., Robertson, N., Kagkli, D.M., Andrewes, P., Nychas, G., Coolbear, T., Holland, R., Crow, W., Tsakalidou, E., 2009. Technological and flavour potential of cultures isolated from traditional Greek cheeses, A pool of novel species and starters. *International Dairy Journal*, 19, 10, 595-604.
- Atamer, M., Sezgin, E., Yetişmeyen, A., 1988. Torba yoğurtlarının bazı niteliklerinin araştırılması, *Gıda*, 11, 4, 283-288.
- Atamer, M., Gürsoy, A., Şenel, E., Öztekin, Ş., 2004. Keçi Sütü Yoğurtlarında Organik Asit İçeriğinin Tat-Aroma Üzerine Etkisi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, 2001-07-14-041, Ankara.
- Atamer, Z., Dietrich, J., Müller Merbach, M., Neve, H., Heller, K.J., Hinrichs, J., 2009. Screening for and characterization of *Lactococcus lactis* bacteriophages with high thermal resistance. *International Dairy Journal*, 19, 228-235.
- Ayad, E.H.E., Orman, A.N., El-Soda, M., 2006. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from artisanal Egyptian Ras cheese. *Lait*, 86, 317-331.
- Ayad, E.H.E., 2009. Starter culture development for improving safety and quality of Domiati cheese. *Food Microbiology*, 26, 533-541.
- Aymerich, T., Artigas, M.T., Monfort, J.M., Hugas, M., 2000. Effect of sausage ingredients and additives on the production of enterocins A and B by *Enterococcus faecium* CTC492. Optimization of in vitro production and anti-listerial effect in dry fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 686-694.
- Badis, A., Guetarni, D., Moussa Boudjema, B., Henni, D.E., Kihal, M., 2004 a. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology*, 21, 579-588.
- Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjema, B., Henni, D.E., Tornadijo, M.E. Kihal, M., 2004 b. Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiology*, 21, 343-349.

- Barrionuevo, M., Alferez, M.J.M., Lopez Aliaga, I., Sanz Sampelayo, M.R., Campos, M.S., 2002. Beneficial effect of goat milk on nutritive utilization of iron and copper in malabsorption syndrome. *Journal Dairy Science*, 85, 657-664.
- Basu, S., Paul, D.K., Ganguly, S., Chatterjee, M., Chandra, P.K., 2008. Efficacy of High-dose *Lactobacillus rhamnosus* GG in controlling acute watery diarrhoea in Indian children: a randomized controlled trial. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 43, 3, 208-213.
- Başığit, G., 2004. Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Olarak Kullanılma Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye.
- Başığit, G., Kuleaşan, H., Karahan, A.G., 2006. Viability of human derived probiotic lactobacilli in ice-cream produced with sucrose and aspartame. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33, 796-800.
- Başığit Kılıç, G., Kuleaşan, H., Eralp, I., Karahan, A.G., 2009. Manufacture of Turkish Beyaz cheese added with probiotic strains. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 1003-1008.
- Başığit Kılıç, G., Karahan, A.G., 2010. Identification of lactic acid bacteria isolated from the fecal samples of healthy humans and patients with dyspepsia and determination of their pH, bile and antibiotic tolerance properties. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 18, 220-229.
- Başığit Kılıç, G., Kılıç, B., Kuleaşan, H., Karahan, A.G., 2010. Effect of probiotics and  $\alpha$ -tocopherol applications on microbial flora of rat gastrointestinal tract. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9, 14, 1972-1977.
- Başığit Kılıç, G., Kuleaşan, H., Çakmak, V.F., 2011. Determination of probiotic properties of *L. plantarum* strains isolated from the human fecal samples. Proceedings of Novel Approches in Food Industry, International Food Congress, 26-29 May 2011, Çeşme, İzmir, Türkiye. 56.
- Başığit Kılıç, G., Kuleaşan, H., Akpınar, D., Sömer, V.F., 2012. Bazı *Lactobacillus plantarum* Suşlarının Probiyotik ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. Tübitak 109 O 623 nolu proje, Burdur.
- Bellisle, F., Diplock, A.T., Hornstra, G., Koletzkos, B., Roberfroid, M., Salminen, S., Saris, W.H.M., 1998. Functional food science in Europe. *British Journal of Nutrition*, 80, 1-193.
- Bengmark, S., 1998. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. *Gut*, 42, 2-7.
- Bernet, M.F., Brassart, D., Meeser, J.R., and Servin, A., 1993. Adhesion of human Bifidobacteria strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 4121-4128.
- Bernhardt, T.G., Wang, I.N., Struck, D.K., Young, R., 2002. Breaking free: “protein antibiotics” and phage lysis. *Research in Microbiology*, 153, 493-501.
- Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G., Simov, Z., 1998. Production of flavour compounds by yoghurt starter cultures. *Journal of Industrial and Biotechnology* 20, 180-186.
- Biavatti, B., Vescovo, M., Torriani, S., Bottazzi, V., 2000. Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. *The Annals of Microbiology*, 50, 117-131.
- Bibiloni, R., Fedorak, R.N., Tannock, G.W., Madsen, K.L., Gionchetti, P., Campieri, M., De Simone, C., Sartor, R.B., 2005. VSL#3 probiotic-mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 100, 1539-1546.

- Binetti, A.G., Suárez, V.B., Tailliez, P., Reinheimer, J.A., 2007. Characterization of spontaneous phage-resistant variants of *Streptococcus thermophilus* by randomly amplified polymorphic DNA analysis and identification of phage-resistance mechanisms. *International Dairy Journal*, 17, 1115-1122.
- Birollo, G.A., Reinheimer, J.A., Vinderola, C.G., 2000. Viability of lactic acid microflora in different types of yoghurt. *Food Research International*, 33, 9, 799-805.
- Bongers, R.S., Hoefnagel, M.H.N., Kleerebezem, M., 2005. High-level acetaldehyde production in *Lactococcus lactis* by metabolic engineering. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 2, 1109-1113.
- Broadbent, J.R., McMahon, D.J., Oberg, C.J., Welker, D.L., 2001., Use of exopolysaccharide-producing cultures to improve the functionality of low fat cheese. *International Dairy Journal*, 11, 433-439.
- Bulut, Ç., 2003. Isolation and Molecular Characterization of Lactic Acid Bacteria From Cheese. Yüksek Lisans Tezi. İzmir Teknoloji Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
- Burgess, C., O'Connell Motherway, M., Sybesma, W., Hugenholtz, J., van Sinderen, D., 2004. Riboflavin production in *Lactococcus lactis*: potential for in situ production of vitamin enriched foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 10, 5769-5777.
- Burns A.J., Rowland, J.R., 2000. Anti-carcinogenicity of probiotic and prebiotics. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 1, 13-24.
- Can, R., 2003. Probiyotiklerin Allerji Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi (yayınlanmamış). Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Türkiye.
- Capurso, G., Marignani, M., Fave, G.D., 2006. Probiotics and the incidence of colorectal cancer: when evidence is not evident. *Digestive and Liver Disease*, 38, 2, 277-282.
- Carr, F.J., Chill, D., Maida, N., 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical Reviews on Microbiology*, 28, 281-370.
- Cebeci, A., Gürakan, C., 2003. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology*, 20, 511-518.
- Cerning, J., Bouillanne, M., Desmazeaud, M., Landon, M., 1986. Isolation and characterization of exocellular polysaccharides by *Lactobacillus bulgaricus*. *Biotechnology Letters*, 8, 625-628.
- Cerning, J., Bouillanne, M., Desmazeaud, M., Landon, M., 1988. Exocellular polysaccharide production by *Streptococcus thermophilus*. *Biotechnology Letters*, 10, 255-260.
- Cerning, J., 1990. Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 87, 113-130.
- Cerning, J., 1995. Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria. *Lait*, 75, 463-472.
- Chang, Y., Kim, J., Kim, H., Kim, W., Kim, Y., Park, Y., 2001. Selection of a potential probiotic *Lactobacillus* strain and subsequent in vivo studies. *Antonie van Leeuwenhoek*, 80, 193-199.
- Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L., Collins, J.K., 1998. Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 759-768.

- Chaves, A.C.S.D., Fernandez, M., Lerayer, A.L.S., Mierau, I., Kleerebezem, M., Hugenholtz, J., 2002. Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 5656-5662.
- Chiang, S.S., Pan, T.M., 2012. Beneficial effects of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101 and its fermented products. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93, 903-916.
- Chryssanthopoulos, C., Maridaki, M., 2010. Nutritional Aspects of Yogurt and Functional Dairy Products. In: Yildiz F. Ed. *Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products*. CRC Pres, London. 267-307.
- Clydesdale, F., 1997. A proposal for the establishment of scientific criteria for health claims for functional foods. *Nutrition Reviews*, 55, 413-422.
- Condon, S., 1987. Responses of lactic acid bacteria to oxygen. *FEMS Microbiology Reviews*, 46, 269-280.
- Corcoran, B.M., Stanton, C., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P., 2005. Survival of probiotic Lactobacilli in acidic environments is enhanced in the presence of metabolizable sugars. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 6, 3060-3067.
- Corral, J.M., Banuelos, O., Adrio, J.L., Velasco, J., 2006. Cloning and characterization of a  $\beta$ -galactosidase encoding region in *Lactobacillus coryniformis* CECT 5711. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73, 640-646
- Corzo, G., Gilliland, S.E., 1999. Bile salt hydrolase activity of three strains of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Dairy Science*, 82, 472-480.
- Cox, D.N., Koster, A., Russell, C.G., 2004. Predicting intentions to consume functional foods and supplements to offset memory loss using an adaptation of protection motivation theory. *Appetite*, 33, 55-64.
- Cutic, V., Hardi, J., Slacanac, V., Pavlovic, H., Vukovic, D., 2004. Inhibitory effect of goat and cow milk fermented by ABT-2 culture (*Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium lactis* Bb-12 and *Streptococcus thermophilus*) on the growth of some uropathogenic *E. coli* strains. *Italian Journal of Food Science*, 16, 209-220.
- Çağlar, E., Kargul, B., Tanboğa, I., 2005. Bacteriotherapy and probiotics' possible role on oral health. *Oral Diseases*, 11, 131-137.
- Çakır, İ., 2003. Laktobasillus ve Bifidobakterlerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Çelik, E.S., 2007. Determination of Aroma Compounds and Exopolysaccharides Formation by Lactic Acid Bacteria Isolated From Traditional Yoghurts. Yüksek Lisans Tezi. İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
- Dave, R.I., Shah, N.P., 1997a. Effect of cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7, 537-545.
- Dave, R.I., Shah, N.P., 1997b. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7, 1, 31-41.
- Degen, A.A., 2007. Sheep and goat milk in pastoral societies. *Small Ruminant Research*, 68 7-19.
- De Buyser, M.L., Dufour, B., Maire, M., Lafarge, V., 2001. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *International Journal of Food Microbiology*, 67, 1-17.

- De Man, J.C., Rogosa, M., Sharpe, M.E., 1960. A medium for the cultivation of Lactobacilli. *Journal of Applied Microbiology*, 23, 1, 130-135.
- De Preter, V., Vanhoutte, T., Huys, G., Swings, J., De Vuyst, L., Rutgeerts, P., Verbeke, K., 2007. Effects of *Lactobacillus casei* Shirota, *Bifidobacterium breve*, and oligofructose-enriched inulin on colonic nitrogen protein metabolism in healthy humans. *American Journal Physiology Gastrointestinal Liver Physiology*, 292, 358-368.
- De Souza Oliveira, R.P., Perego, P., Converti, A., De Oliveira, M.N., 2009. Growth and acidification performance of probiotics in pure culture and co-culture with *Streptococcus thermophilus*: The effect of inulin. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 1015-1021.
- De Vries, M.C., Vaughan, E.E., Kleerebezem, M., De Vos, W.M., 2006a. *Lactobacillus plantarum* survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal* 16, 1018-1028.
- De Vries, M.C., Siezen, R. J., Wijman, J. G., Zhao, Y., Kleerebezem, M., De Vos, W. M., Vaughan, E. E., 2006b. Comparative and functional analysis of the rRNA-operon and their tRNA gene complement in different lactic acid bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 29, 358-367.
- De Vuyst, L., Degeest, B., 1999. Heteropolysaccharides from lactic acidbacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 23, 153-177.
- De Vuyst, L., 2000. Technology Aspects Related to the Application of Functional Starter Cultures. Application of Functional Starter Cultures. *Food Technology and Biotechnology*, 38, 2, 105-112.
- De Vuyst, L., de Vin, F., Vaningelgem, F., Degeest, B., 2001. Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11, 687-707.
- Deeth, H.C., Tamime, A.Y., 1981. Yoghurt: nutritive and therapeutic aspects. *Journal of Food Protection*, 44, 78-86.
- Delavenne, E., Ismail, R., Pawtowski, A, Mounier, J., Barbier, G., Blay, G.L., 2013. Assessment of lactobacilli strains as yogurt bioprotective cultures. *Food Control*, 30, 206-213.
- Dobson, A., Cotter, P.D., Ross, R.P., Hill, C., 2012. Bacteriocin Production: a Probiotic Trait? *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 1, 1-6.
- Doco, T., Fournet, B., Carcano, D., Ramos, P., Loones, A., 1990. Structure of an exocellular polysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus*. *Carbohydrate Research*, 198, 313-321.
- Domagala, J., 2009. Instrumental texture, syneresis and microstructure of yoghurt prepared from goat, cow and sheep milk. *International Journal of Food Properties*, 12, 605-615.
- Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N.P., 2005. Probiotic strains as starter cultures improve angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in soy yogurt. *Journal of Food Science*, 70, 8, 375-381.
- Donkor, O.N., Henriksson, T., Vasiljevic, T., Shah, N.P., 2006. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 16, 1181-1189.
- Donkor, O.N., Nimlini, S.L.I., Stolic, P., Vasiljevic, T., Shah, N.P., 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 17, 657-665.



- Duary, R.K., Rajput, Y.S., Batish, V.K., Grover, S., 2011. Assessing the adhesion of putative indigenous probiotic lactobacilli to human colonic epithelial cells. *The Indian Journal of Medical Research*, 134, 664-671.
- Dubeuf, J.P., Le Jaouen, J.C., 2005. The sheep and goat dairy sectors in the European Union: present situation and stakes for the future. *International Dairy Federation*, 501, 1-7.
- Duboc, P., Mollet, B., 2001. Applications of exopolysaccharides in dairy industry. *International Dairy Journal*, 11, 759-768.
- Dunne, C., 2001. Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder. *Inflammatory Bowel Diseases*, 7, 2, 136-145.
- Dunne, C., O'Mahony, L., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., O'Halloran, S., Feeney, M., Flynn, S., Fitzgerald, G., Daly, C., Kiely, B., O'Sullivan, G.C., Shanahan, F., Collins, J.K., 2001. *In vitro* selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with *in vivo* findings. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 386-392.
- Dutta, S.M., Kulia, R.K., Laxminarayana, H., 1971. A comparative study of the activity of starter culture in different types of milk. *Milchwissenschaft*, 26, 158-161.
- Edwards, C.A., Parret, A.M., 2002. Intestinal flora during the first month of life: new perspectives. *British Journal of Nutrition*, 88, 11-18.
- Eissa, E.A., Ahmed, I.A.M., Yagoub, A.E.A., Babiker, E.E., 2010. Physicochemical, microbiological and sensory characteristics of yoghurt produced from goat milk. *Livestock Research for Rural Development*, 22,8.
- El-Nezami, H.S., Polychronaki, N.N., Ma, J., Zhu, H., Ling, W., Salminen, E.K., Juvonen, R.O., Salminen, S.J., Poussa, T., Mykkänen, H.M., 2006. Probiotic supplementation reduces a biomarker for increased risk of liver cancer in young men from Southern China. *American Journal of Clinical Nutrition*, 83, 1199-203.
- Erdoğan, Ö., Erbilir, F., 2006. Çeşitli Gıdalardan İzole Edilen *Lactobacillus bulgaricus* ve *Lactobacillus casei*'nin İzolasyon ve Karakterizasyonu. *Turkish Journal of Biology*, 30, 39-44.
- Erkkilä, S., Petäjä, E., 2000. Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat Science*, 55, 297-300.
- Erkmen, O., Bozoğlu, T.F., 2008. *Food Microbiology 4 Beneficial Uses of Microorganisms for Food Preservation and Health*. İlke Yayınevi, Ankara. 39-49.
- Evren, M., Apan, M., Tutkun, E., Evren, S., 2011. Geleneksel fermente gıdalarda bulunan laktik asit bakterileri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9, 1, 11-17.
- Faber, E.J., Zoon, P., Kamerling, J.P., Vliegthart, J.F.G., 1998. The exopolysaccharides produced by *Streptococcus thermophilus* Rs and Sts have the same repeating unit but differ in viscosity of their milk cultures. *Carbohydrate Research*, 310, 269-276.
- FAO/WHO, 2001. Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report.
- FAO, 2002. Food and Nutrition Paper, Probiotics in food. Health and Nutritional Properties of Probiotics and Guidelines for Evaluation, World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, <ftp://ftp.fao.org/esn/food/wgreport2.pdf>.

- Farias, M.E., Nunez de Kairuz, M., Sesma, F., Palacios, J., de Ruiz Holgado, A.P., Oliver, G., 1999. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by the bacteriocin enterocin CRL35 during goat cheese making. *Milchwissenschaft*, 54, 30-32.
- Farnsworth, J.P., Lia, J., Hendricks, G.M., Guo, M.R., 2006. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Research*, 65, 113-121.
- Felis, G.E., Dellaglio, F., 2007. Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 8, 44-61.
- Fisher, K., Phillips, C., 2009. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. *Microbiology*, 155, 1749-1757.
- Floros, G., Hatzikamari, M., Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N., 2012. Probiotic and technological properties of facultatively heterofermentative Lactobacilli from Grek traditional cheeses. *Food Biotechnology*, 26, 85-105.
- Fontaine, E.A., Taylor Robinson, D., 1990. Comparison of quantitative and qualitative methods of detecting hydrogen peroxidase produced by human vaginal strains of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 69, 329-331.
- Fooks, L.J., Fuller, R., Gibson, G.R., 1999. Probiotics, prebiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal*, 9, 53-61.
- Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 365-378.
- Fuller, R., 1999. Probiotics. *Colonic Microbiota, Nutrition and Health*, 89-99.
- Gálvez, A., López, R.L., Abriouel, H., Valdivia, E., Omar, N.B., 2008. Application of Bacteriocins in the Control of Foodborne Pathogenic and Spoilage Bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28, 125-152.
- Garcia Garibay, M., Marshall, V.M.E., 1991. Polymer production by *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*. *Journal of Applied Microbiology*, 70, 4, 325-328.
- Gardini, F., Lanciotti, R., Guerzonni, M.E., Torriani, S., 1999. Evaluation of aroma production and survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* in fermented milks. *International Dairy Journal*, 9, 125-134.
- Gaudana, S.B., Dhanani, A.S., Bargchi, T., 2010. Probiotic attributes of Lactobacillus strains isolated from food and of human origin. *British Journal of Nutrition*, 103, 1620-1628.
- Gheyntanchi, E., Heshmati, F., Shargh, B.K., Nowroozi, J., Movahedzadeh, F., 2010. Study on  $\beta$  galactosidase enzyme produced by isolated lactobacilli from milk and cheese. *African Journal of Microbiology Research*, 4, 6, 454-458.
- Gibson, G.R., Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Gilliland, S.E., Lara, R.C., 1988. Influence of storage at freezing and subsequent refrigeration temperatures on  $\beta$ -galactosidase activity of *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 54, 4, 898-902.
- Goderska, K., Czarnecki, Z., 2007. Characterization of selected strains from *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum*. *African Journal of Microbiology Research*, 1, 6, 65-78.

- Goldin, B.R., Gualtieri, L.J., Moore, R.P., 1996. The effect of *Lactobacillus* on the initiation and promotion of DMH-induced intestinal tumours in the rat. *Nutrition and Cancer an International Journal*, 25,197-204.
- Goldin, B.R., 2011. Probiotics and Health: From History to Future. In: Kneifel, W., Salminen, S., Eds. *Probiotics and Health Claims*. Blackwell Publishing Ltd, UK. 1-13.
- Gomes, M.P., Malcata, F.X., 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotic. *Trends in Food Science&Technology*, 10, 139-157.
- Grunert, K.G., Bech Larsen, T., Bredahl, L., 2000. Three issues in consumer quality perception and acceptance of dairy products. *International Dairy Journal*, 10, 575-584.
- Grmanová, M., Vlková, E., Homutová, I., 2010. Survival of Bifidobacteria in adult intestinal tract. *Folia Microbiologica*, 55, 3, 281-285.
- Guerra, N.P., Pastrana, L., 2002. Modelling the influence of pH on the kinetics of both nisin and pediocin production and characterization of their functional properties. *Process Biochemistry*, 37, 1005-1015.
- Guglielmottia, D.M., Marcó, M.B., Golowczyc, M., Reinheimer, J.A., Quiberoni, A.L., 2007. Probiotic potential of *Lactobacillus delbrueckii* strains and their phage resistant mutants. *International Dairy Journal*, 17, 916-925.
- Güler Akın, M.B., 2005. The effects of different incubation temperatures on the acetaldehyde content and viable bacteria counts of bio-yogurt made from ewe's milk. *Society of Dairy Technology*, 58, 3, 174-179.
- Güler Akın, M.B., Akın, M.S., 2007. Effects of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goat's milk. *Food Chemistry*, 100, 2, 788-793.
- Güler, Z., 2007. Changes in salted yoghurt during storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 235-245.
- Güler, Z., Gürsoy Balcı, A.C., 2011. Evaluation of volatile compounds and free fatty acids in set types yogurts made of ewes', goats' milk and their mixture using two different commercial starter cultures during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 127, 1065-1071.
- Gülmez, M., Güven, A., 2002. Probiyotik, Prebiyotik ve simbiyotikler, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8, 1, 83-89.
- Gürsoy, A., Özkaya, F.D., Yıldız, F., Aşım, B., 2006. Ekzopolisakkarit Üretimi Yüksek *Streptococcus thermophilus* W22 ve *Lactobacillus delbrueckii* ssp. bulgaricus B3 Suşlarının Yoğurt Üretiminde Kullanımı. 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu, Türkiye. 607.
- Güven, A., Gülmez, M., 2006. Fonksiyonel gıdalar ve sağlıkla ilişkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12, 1, 91-96.
- Haenlein, G.F.W., 1995. Nutrituonal value of dairy products of ewe and goat milk. IDF 41, Square Vergote, B1030, Brussels, Belgium. 159-178.
- Haenlein, G.F.W., 2004. Goat milk in human nutrition. *Small Ruminant Research*, 51, 155-163.
- Haenlein, G.F.W., Abdellatif, M.A., 2004. Trends in small ruminant husbandry and nutrition and specific reference to Egypt. *Small Ruminant Research*, 51, 185-200.

- Hammes, W.P., Vogel, R.F., 1995. The genus *Lactobacillus*. In: Wood, B.J.B., Holzapfel, W.H., Eds. *The Genera of Lactic Acid Bacteria. The Lactic Acid Bacteria Volume: 2* Chapman & Hall, Glasgow, UK. 19-52.
- Hansen, E.B., 2002. Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 119-131.
- Hardwood, V.J., Whitlock, J., Withington, V., 2000. Classification of antibiotic resistance patterns of indicator bacteria by discriminant analysis: use in predicting the source of fecal contamination in subtropical waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 3698-3704.
- Hartemink, R., Domenech, V.R., Rombouts, F.M., 1997. LAMVAB-A new selective medium for the isolation of lactobacilli from faeces. *Journal of Microbiological Methods*, 29, 77-84.
- Hassan, A.N., Frank, J.F., Schmidt, K.A., Shalabi, S.I., 1996. Textural properties of yogurt made with encapsulated nonropy lactic cultures. *Journal Dairy Science*, 79, 2098-2103.
- Hathcock, J.N., 1995. Applications of antioxidants in physiologically functional foods: safety aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 161-166.
- Havenaar, R., Huis in't Veld, J.H.J., 1992. Probiotics: a general view., In: Wood, B.J.B., ed. *The Lactic Acid Bacteria, Vol. 1*. Chapman & Hall, London. 151-170.
- He, T., Priebe, M.G., Zhong, Y., Huang, C., Harmsen, H.J.M., Raangs, G.C., Antoine, J.M., Welling, G.W., Vonk, R.J., 2008. Effects of yogurt and bifidobacteria supplementation on the colonic microbiota in lactose-intolerant subjects. *Journal of Applied Microbiology*, 104, 595-604.
- Hebert, E.M., Raya, R.R., Tailliez, P., Giori, G.S., 2000. Characterization of natural isolates of *Lactobacillus* strains to be used as starter cultures in dairy fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 59, 19-27.
- Hebert, E.M., Graciela, S.D.G., Raul, R.R., 2001. Isolation and characterization of a slowly milk-coagulating variant of *Lactobacillus helveticus* deficient in purine biosynthesis. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 4, 1846-1850.
- Helander, I.M., von Wright, A., Mattila Sandholm, T.M., 1997. Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 8, 146-150.
- Herrero, A.M., Requena, T., 2006. The effect of supplementing goats milk with whey protein concentrate on textural properties of set-type yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 87-92.
- Heuvelin, E., Lebreton, C., Bichara, M., Cerf Bensussan, N., Heyman, M., 2010. A *Bifidobacterium* probiotic strain and its soluble factors alleviate chloride secretion by human intestinal epithelial cells. *Journal of Nutrition*, 140, 7-11.
- Heyman, M.B., 2006. The committee on nutrition. lactose intolerance in infants, children, and adolescents. *Journal of Pediatrics*, 118, 1297-1286.
- Holzapfel, W.H., Geisen, R., Schillinger, G., 1995. Biological-preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins, and food grade enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, 24, 343-362.
- Holzapfel, W.H., Haberer, P., Snel, J., Schillinger, U., Huis in't Veld, J.H.J., 1998. Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 41, 85-101.

- Holzappel, W.H., Wood, B.J.B., 1998. *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Blackie Academic and Professional, London. 405 p.
- Holzappel, W., Schillinger, U., 2002. Introduction to pre- and probiotics. *Food Research International*, 35, 109-116.
- Hopkins, M.J., Sharp, R., Macfarlane, G.T., 2001. Age and disease related changes in intestinal bacterial populations assessed by cell culture 16S rRNA abundance, and community cellular fatty acid profiles. *Gut*, 48, 198-205.
- Horie, H., Zeisig, M., Hirayama, K., Midtvedt, T., Moller, L., Rafter, J., 2003. Probiotic mixture decreases DNA adduct formation in colonic epithelium induced by the food mutagen 2-amino-9Hpyrido(2,3-b) indole in a human-flora associated mouse model. *European Journal of Cancer Prevention*, 12, 101-107.
- Hosoda, M., Hashirnoto, H., He, D., Morita, H., Hosono, A., 1996. Effect of administration of milk fermented with *Lactobacillus acidophilus* LA-2 on fecal mutagenicity and microflora in the human intestine. *Journal of Dairy Science*, 79, 745-749.
- Huang, J.S., Bousvaros, A., Lee, J.W., Diaz, A., Davidson, E.J., 2002. Efficacy of probiotic use in acute diarrhoea in children: a meta-analysis. *Digestive Diseases and Science*, 47, 2625-2634.
- Huggett, A.C., Verschuren, P.M., 1996. The safety assurance of functional foods. *Nutrition Reviews*, 54, 132-140.
- Hull, M.E., 1947. Studies on milk proteins. II Colorimetric determination of the partial hydrolysis of the protein in milk. *Journal of Dairy Science*, 30, 11, 881-884.
- Hull, R.R., Roberts, A.V., 1984. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in yoghurt. *Australian Journal of Dairy Technology*, 39, 154-166.
- Hutt, P., Shchepetova, J., loivukene, K., Kullisaar, T., Mikelsaar, M., 2006. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero and uropathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 100, 1324-1332.
- Hyronimus, B., Le Marrec, C., Hadj Sassi, A., Deschamps, A., 2000. Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 61, 193-197.
- Íñiguez Palomares, C., Pérez Morales, R., Acedo Félix, E., 2007. Evaluation of probiotic properties in *Lactobacillus* isolated from small intestine of piglets. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*, 49, 3-4, 46-54.
- İbrahim, S.M., Desouky, S.G., 2009. Effect of antimicrobial metabolites produced by lactic acid bacteria (Lab) on quality aspects of frozen Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 1, 1, 40-45.
- Jan, G., Rouault, A., Maubois, J.L., 2000. Acid stress susceptibility and acid adaptation of *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*. *Lait*, 80, 325-336.
- Jiang, T., Mustapha, A., Savaiano, D.A., 1996. Improvement of lactose digestion in humans by ingestion of unfermented milk containing *Bifidobacterium longum*. *Journal of Dairy Science*, 79, 5, 750-757.
- Kalviainen, N., Roininen, K., Tuorila, H., 2003. The relative importance of texture, taste and aroma on a yogurt-type snack food preference in the young and the elderly. *Food Quality and Preference*, 14, 177-186.

- Karademir, E., Atamer, M., Tamucay, B., Yaman, Ş., 2002. Some properties of goat milk yoghurts produced by different fortification methods. *Milchwissenschaft*, 57, 5, 262-263.
- Karagül Yüceer, G., Avşar, Y.K., 2010. Health Attributes of Yoghurt and Functional Dairy Products. In: Yıldız, F., Ed. *Development and Manufacture of Yoghurt and Other Functional Dairy Products*. CRC Pres Taylor and Francis Group, US. 307-315.
- Karahan, A.G., Çakmakçı, M.L., 1996. Etlik piliç barsak florası üzerine yemin etkisi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 2, 1, 37-41.
- Karahan, A.G., 2005. Sıçan modellerinde probiyotik ve kafeik asit fenetil ester (Cafe)'nin deneysel karaciğer yağlanması üzerine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi-Bilimsel Araştırma Projeleri, 1086-M-05.
- Karahan, N., İşler, M., Koyu, A., Karahan, A.G., Başyigit Kılıç, G., Ciris, İ.M., Sütçü, R., Onaran İ., Çam, H., Keskin, M., 2012. Effects of probiotics on methionine choline-deficient diet-induced steatohepatitis in rats. *Journal of Turkish Gastroenterology*, 23, 110-121.
- Karasu, N., 2006. Turşu ve Zeytinden Antagonistik ve Probiyotik Özellikte Laktik Starter Kültür Eldesi. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye.
- Kavas, G., Uysal, H., Kılıç, S., Akbulut, N., Kesenkaş, H., 2003. Some properties of yoghurts produced from goat milk and cow-goat milk mixtures by different fortification methods. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6, 23, 1936-1939.
- Kearney, N., Meng, X.C., Stanton, C., Kelly, J., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P., 2009. Development of a spray dried probiotic yoghurt containing *Lactobacillus paracasei* NFBC. *International Dairy Journal*, 19,11, 684-689.
- Keogh, M.K., O'Kennedy, B.T., 1998. Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *Journal of Food Science*, 63,1, 108-112.
- Khedkar, C.D., Garge, R.D., Mantri, J.M., Kulkarni, S.A., Khedkar, G.D., 1993. Effect of feeding acidophilus milk on serum cholesterol in human volunteers. *Journal of Dairying Foods and Home Sciences*, 12, 33-38.
- Kılıç, S., Karagözlü, C., Akbulut, N., Mater, Y., 2003. *L. delbruecki* subsp. *bulgaricus* ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*'un eksopolisakkarit oluşturma özellikleri. *Dünya Gıda*, 8, 64-68.
- Kılıç, S., 2008. *Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, no: 542, İzmir. 451 s.
- Kimoto, H., Kurisaki, J., Tsuji, N.M., Ohmomo, S., Okamoto, T., 1999. Lactococci as probiotic strains: adhesion to human enterocyte-like Caco-2 cells and tolerance to low pH and bile. *Letters in Applied Microbiology*, 29, 313-316.
- Kitazawa, H., Harata, T., Uemura, J., Daito, T., Kaneko, T., Itoh, T., 1998. Phosphate group requirement for mitogenic activation of lymphocytes by an extracellular phosphopolysaccharide from *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*. *International Journal of Food Microbiology*, 40, 169-175.
- Klaenhammer, T.R., Kulen, M.J., 1999. Selection and design of probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 50, 45-57.
- Klaenhammer, T. R., 2000. Probiotic bacteria: Today and tomorrow. *Journal of Nutrition*, 130, 415-416.

- Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., Reuter, G., 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 41, 103-125.
- Kneifel, W., Jaros, D., Erhard, F., 1993. Microflora and acidification properties of yogurt and yogurt-related products fermented with commercially available starter cultures. *International Journal of Food Microbiology*, 18, 3, 179-189.
- Kongo, J.M., Gomes, A.M., Malcata, F.X., 2006. Manufacturing of fermented goat milk with a mixed staterculture of *Bifidobacterium animalis* and *Lactobacillus acidophilus* in a controlled bioreactor. *Letters in Applied Microbiology*, 42, 595-599.
- Kontula, P., Suihko, M.L., Suortti, T., Tenkanen, M., Mattila Sandholm, T., von Wright, A., 2000. The isolation of lactic acid bacteria from human colonic biopsies after enrichment on lactose derivatives and rye arabinoxyloligosaccharides. *Food Microbiology*, 17, 13-22.
- Kos, B., Šušković, J., Beganović, J., Gjuračić, K., Frece, J., Iannaccone, C., Canganella, F., 2008. Characterization of the three selected probiotic strains for the application in food industry. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 5, 699-707.
- Kotowska, M., Albrecht, P., Szajewska, H., 2005. *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Alimentary and Pharmacology Therapeutics*, 21, 583-590.
- Kruis, W., Fric, P., Pokrotnieks, J., Lukás, M., Fixa, B., Kascák, M., Kamm, M.A., Weismueller, J., Beglinger, C., Stolte, M., Wolff, C., Schulze, J., 2004. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut*, 53, 1617-1623.
- Kumar, M., Ghosh, M., Ganguli, A., 2012. Mitogenic response and probiotic characteristics of lactic acidbacteri isolated from indigenously pickled vegetables and fermented beverages. *World Journal Microbiology & Biotechnology*, 28, 703-711.
- Kurmann, J.A., 1986. Yogurt made from ewe's and goat's milk. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 202, 153-166.
- Küçükçetin, A., Demir, M., Aşci, A., Çomak, E.M., 2011. Graininess and roughness of stirred yoghurt mad with goat's, cow's or a mixture of goat's and cow's milk. *Small Ruminant Research*, 96, 173-177.
- Lahtinen, T., Malinen, E., Kort, J.M.K., Mertaniemi Hannus, U., Hankimo, T., Karikoski, N., Pakkanen, S., Laine, H., Sillanpaa, H., Soderholm, H., Palva, A., 2010. Probiotic roperties of *Lactobacillus* isolates originating from porcine intestine and feces. *Anaerobe*, 16, 293-300.
- Lankaputhra, W.E.V., Shah, N.P., Britz, M.L., 1996. Survival of *Bifidobacteria* during refrigerated storage in the presence of acid and hydrogen peroxide. *Milchwissenschaft*, 51, 65-70.
- Larkin, T.A., Astheimer, L.B., Price, W.E., 2009. Dietary combination of soy with a probiotic or prebiotic food significantly reduces total and LDL cholesterol in mildly hypercholesterolaemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63, 238-245.
- Larsen, T.B., Grunert, K.G., 2003. The perceived healthiness of functional foods a conjoint study of Danish, Finnish and American consumers' perception of functional foods. *Appetite*, 40, 9-14.
- Law, B.A., 1981. The formation of aroma and flavor compounds in fermented dairy products. *Dairy Science Abstracts*, 43, 143-154.
- Law, B.A., Kolstad, J., 1983. Proteolytic systems in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49, 225-245.

- Laws, A., Gu, Y., Marshall, V., 2001. Biosynthesis, characterisation and design of bacterial exopolysaccharide from lactic acid bacteria. *Biotechnology Advances*, 19, 1-28.
- Leclerc, P.L., Gauthier, S.F., Bachelard, H., Santure, M., Roy, D., 2002. Antihypertensive activity of casei enriched milk fermented by *Lactobacillus helveticus*. *International Dairy Journal*, 12, 995-1004.
- Lee, Y.K., Salminen, S., 1995. The coming age of probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 24, 241-245.
- Lees, G. J., Jago, G.R., 1976. Formation of acetaldehyde from threonine by lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Research*, 43, 75-83.
- Lengkey, H.A.W., Balia, R.L., Togoe, I., Taşbac, B.A., Ludong, M., 2009. Isolation and identification of lactic acid bacteria from raw poultry meat. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25, 5-6, 1071-1077.
- Leroy, F., De Vuyst, L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 67-78.
- Leser, T.D., Mølbak, L., 2009. Better living through microbial action: the benefits of the mammalian gastrointestinal microbiota on the host. *Environmental Microbiology*, 11, 9, 2194-2206.
- Levine, R.S., 2001. Milk, flavoured milk products and caries. *British Dental Journal*, 191, 20.
- Levri, K.M., Ketvertis, K., Deramo, M., Merenstein, J.H., D'Amico, F., 2005. Do probiotics reduce adult lactose intolerance? *Journal of Family Practice*, 54,7, 613-620.
- Lewandowska, M., Olejnik, A., Neumann, M., Krępilec, A., Piotrowska, J., Teresiak, A., Grajek, W., 2005. Comparative in vitro study on the adhesion of probiotic and pathogenic bacteria to different human intestinal cell lines. *Prace Eksperymentalne*, 2, 69, 215-233.
- Lim, S.M., Im, D.S., 2009. Screening and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Korean fermented foods. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19, 2, 178-186.
- Lin, M.Y., Savaiano, D., Harlander, S., 1991. Influence of nonfermented dairy products containing bacterial starter cultures on lactose maldigestion in humans. *Journal of Dairy Science*, 74, 87-95.
- Lin, W., Hwang, C., Chen, L., Tsen, H., 2006. Viable counts, characteristic evaluation for commercial lactic acid bacteria products. *Food Microbiology*, 23, 74-81.
- Lin, T.Y., Chang Chien, M.F., 2007. Exopolysaccharides production as affected by lactic acid bacteria and fermentation time. *Food Chemistry*, 100, 4, 1419-1423.
- Lind, H., Sjögren, J., Gohil, S., Kene, L., Schnürer, J., Broberg, A., 2007. Antifungal compounds from cultures of dairy propionibacteria type strains. *FEMS Microbiology Letters*, 271, 310-315.
- Liong, M.T., Shah, N.P., 2005. Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of *Lactobacilli* strains. *Journal of Dairy Science*, 88, 55-66.
- Liong, M.T., Shah, N.P., 2006. Effect of *Lactobacillus casei* synbiotic on serum lipoprotein, intestinal microflora, and organic acids in rats. *Journal of Dairy Science*, 89, 5, 1390-1399.
- Liong, M.T., 2007. Probiotics: A critical review of their potential role as antihypertensives, immune modulators, hypocholesterolemic, and perimenopausal treatments. *Nutrition Reviews*, 65, 316-328.



- Liong, M.T., 2008. Roles of probiotics and prebiotics in colon cancer prevention: postulated mechanisms and *in-vivo* evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, 9, 854-863.
- Ljungh, A., Wadström, T., 2005. Lactic Acid Bacteria as Probiotic. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 7, 73-90.
- Llopis, M., Antolin, M., Carol, M., Borruel, N., Casellas, F., Martinez, C., Espín Basany, E., Guarner, F., Malagelada, J.R., 2009. *Lactobacillus casei* downregulates commensals' inflammatory signals in Crohn's disease mucosa. *Inflammatory Bowel Disease*, 15, 275-283.
- Lo Curto, A., Pitino, I., Mandalari, G., Dainty, J.R., Faulks, R.M., Wickham John, M.S., 2011. Survival of probiotic lactobacilli in the upper gastrointestinal tract using an *in vitro* gastric model of digestion. *Food Microbiology*, 7, 1359-1366.
- Longdet, I.Y., Kutdhik, R.J., Nwoyeocha, I.G., 2011. The probiotic efficacy of *Lactobacillus casei* from human breast milk against Shigellosis in Albino rats. *Advances in Biotechnology & Chemical Processes*, 1, 12-16.
- Lourens Hattingh, A., Viljoen, B.C., 2001. Yogurt as probiotic carrier food. *International Journal of Dairy Technology*, 11, 1-17.
- Lowe, D.P., Arendt, E.K., 2004. The use and effects of lactic acid bacteria in malting and brewing with their relationships to antifungal activity, mycotoxins and gushing. *Journal of The Institute of Brewing*, 110, 3, 163-180.
- López Aliaga, I., Alférez, M.J.M., Barrionuevo, M., Nestares, T., Sanz Sampelayo, M.R., 2003. Malabsorption syndrome. *Journal of Dairy Research*, 68, 451-461.
- Lucey, J.A., 2004. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. *International Journal of Dairy Technology*, 57, 77-84.
- Lye, H.S., Rusul, G., Liong, M.T., 2010. Mechanisms of cholesterol removal by lactobacilli under conditions that mimic the human gastrointestinal tract. *International Dairy Journal*, 20, 169-175.
- MacBean, R.D., 2009. Packaging and the shelf life of yogurt. In: Robertson, G. L., Ed. *Food Packaging and Shelf Life: A Practical Guide*. Boca Raton, FL, CRC Press, USA. 143-156.
- Macfarlane, S., Macfarlane, G.T., 1995. Proteolysis and amino acid fermentation. In: Gibson G.R., Macfarlane G.T., Eds. *Human Colonic Bacteria: Role in Nutrition, Physiology and Pathology*. Boca Raton: CRC Press, USA. 75-100.
- Macfarlane, G.T., Gibson, G.R., 1997. Carbohydrate fermentation, energy transduction and gas metabolism in the human large intestine. In: Mackie, R.I. and White, B.H., Eds. *Gastrointestinal Microbiology, Vol. 1*. Chapman & Hall, London. 269-318.
- Mackie, R.I., Sghir, A., Gaskins, H.R., 1999. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 1035-1045.
- Mahony, J., Ainsworth, S., Stockdale, S., Sinderen, D., 2012. Phages of lactic acid bacteria: The role of genetics in understanding phage-host interactions and their co-evolutionary processes. *Virology*, 434, 143-150.
- Mollendorff, J.W., Todorov, S.D., Dicks, L.M.T., 2006. Comparison of bacteriocins produced by lactic-acid bacteria isolated from Boza, a cereal based fermented beverage from the Balkan Peninsula. *Current Microbiology*, 53, 209-216.

- Manero, A., Blanch, R.A., 1999. Identification of *Enterococcus* spp. with a biochemical key. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 10, 4425-4430.
- Maragkoudakis, P.A., Miaris, C., Rojez, P., Manalis, N., Magkanari, F., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., 2006. Production of traditional Greek yoghurt using *Lactobacillus* strains with probiotic potential as starter adjuncts. *International Dairy Journal*, 16, 52-60.
- Marteau, P., Pochart, P., Bouhnik, Y., Rambaud, J.C., 1993. Fate and effects of some transiting microorganisms in the human gastrointestinal tract. *World Review of Nutrition & Dietetics*, 74, 1-21.
- Marteau, P., 2001. Prebiotics and probiotics for gastrointestinal health. *Clinical Nutrition*, 1, 41-45.
- Martín Diana, A.B., Janer, C., Peláez, C., Requena, T., 2003. Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 13, 827-833.
- Martín, R., Olivares, M., Marín, M.L., Fernández, L., Xaus, J., Rodríguez, J.M., 2005. Probiotic potential of 3 *Lactobacilli* strains isolated from breast milk. *Journal of Human Lactation*, 21, 1, 8-17.
- Matijašić, B.B., Narat, M., Zorič, M., 2003. Adhesion of two *Lactobacillus gasseri* probiotic strains on Caco-2 cells. *Food Technology and Biotechnology*, 41,1, 83-88.
- Matsumoto, M., Ohishi, H., Benno, Y., 2004. H<sup>+</sup>-ATPase activity in *Bifidobacterium* with special reference to acid tolerance. *International Journal of Food Microbiology*, 93, 109-113.
- Mattila Sandholm, T., Saarela, M., 2003. *Functional Dairy Products*. CRC Pres, Taylor and Francis, Florida. 395 p.
- McIntosh, G.H., Royle, P.J., Playne, M.J., 1999. A probiotic strain of *L. acidophilus* reduces DMH-induced large intestinal tumors in male Sprague Dawley rats. *Nutrition and Cancer an International Journal*, 13, 89-99.
- McKinley, M.C., 2005. The nutrition and health benefits of yoghurt. *Society of Dairy Technology*, 58, 1, 1-12.
- Medici, M., Vinderola, C.G., Perdigon, G., 2004. Gut mucosal immunomodulation by probiotic fresh cheese. *International Dairy Journal*, 14, 611-618.
- Miller, J.H., 1972. Assay of  $\beta$ -galactosidase. In: Miller, J.H., Ed. *Experiments in molecular genetics*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York. 352-355.
- Mills, S., Coffey, A., McAuliffe, O.E., Meijer, W.C., Hafkamp, B., Ross, R.P., 2007. Efficient method for generation of bacteriophage insensitive mutants of *Streptococcus thermophilus* yoghurt and mozzarella strains. *Journal of Microbiological Methods*, 70, 159-164.
- Minervini, F., Bilancia, M.T., Siragusa, S., Gobbetti, M., Caponio, F., 2009. Fermented goats' milk produced with selected multiple starters as a potentially functional food. *Food Microbiology*, 26, 559-564.
- Mistry, V.V., Hassan, H.N., 1992. Manufacture of nonfat yogurt from a high milk protein powder. *Journal of Dairy Science*, 75, 947-957.
- Montes, R.G., Bayless, T.M., Saavedra, J.M., Perman, J.A., 1995. Effect of milk inoculated with *Lactobacillus acidophilus* or a yogurt starter culture in lactose-maldigesting children. *Journal of Dairy Science*, 78, 1657-1664.

- Morgan, S.M., Garvin, M., Ross, R.P., Hill, C., 2001. Evaluation of a spray-dried lacticin 3147 powder for the control of *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus* in a range of food systems. *Letters in Applied Microbiology*, 33, 387-391.
- Mourad, K., Nour Eddine, K., 2006. *In vitro* preselection criteria for probiotic *Lactobacillus plantarum* strains of fermented olives origin. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 1, 1, 27-32.
- Moussavi, M., Adams, M.C., 2009. An *in vitro* study on bacterial growth interactions and intestinal epithelial cell adhesion characteristics of probiotic combinations. *Current Microbiology*, 60, 327-335.
- Mowlem, A., 2005. Marketing goat dairy produce in the UK. *Small Ruminant Research*, 60, 207-213.
- Mozzi, F., Oliver, G., De Giori, G.S., De Valdez, G.F., 1995. Influence of temperature on the production of exopolysaccharides by thermophilic lactic acid bacteria. *Milchwissenschaft*, 50, 80-82.
- Muller, H.E., 1995. Detection of hydrogen peroxide produced by microorganism on ABTS-peroxidase medium. *Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie und Hygiene*, 259, 151-158.
- Mustapha, A., Jiang, T., Savaiano, D.A., 1997. Improvement of lactose digestion by humans following ingestion of unfermented acidophilus milk: influence of bile sensitivity, lactose transport and acid tolerance of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Dairy Science*, 80, 1537-1545.
- Nakajima, H., Toba, T., Toyoda, S., 1995. Enhancement of antigen-specific antibody production by extracellular slime products from slime-forming *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* SBT 0495 in mice. *International Journal of Food Microbiology*, 25, 153-158.
- Ng, E.W., Yeung, M., Tong, P.S., 2011. Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 169-175.
- Nguyen, T.D.T., Kang, J.H., Lee, M.S., 2007. Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol lowering effects. *International Journal of Food Microbiology* 113, 3, 358-361.
- Nguyen, T.H., Splechtina, B., Yamabhai, M., Haltrich, D., Peterbauer, C., 2007. Cloning and expression of the  $\beta$ -galactosidase genes from *Lactobacillus reuteri* in *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology*, 129, 581-591.
- Nielsen, P.M., Petersen, D., Dambmann, C., 2001. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, 66, 5, 642-646.
- Nighswonger, B.D., Brashears, M.M., Gilliland, S.E., 1996. Viability of *L. acidophilus* and *L. casei* in fermented milk products during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science*, 79, 212-219.
- Niku Paavola, M.L., Laitila, A., Mattila Sandholm, T., Haikara, A., 1999. New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 29-35.
- Oberreuther Moschner D.L., Jahreis, G., Rechkemmer, G., Pool Zobel, B.L., 2004. Dietary intervention with the probiotics *Lactobacillus acidophilus* 145 and *Bifidobacterium longum* 913 modulates the potential of human faecal water to induce damage in HT29clone19A cells. *British Journal of Nutrition*, 91, 925-932.
- O'Connor, E.B., Baret, E., Fitzgerald, G., Hill, C., Stanton, C., Ross, R.P., 2008. Production of Vitamins, Exopolysaccharides and Bacteriosins by Probiotic Bacteria In: Tamime, A.Y., Ed. *Probiotic Dairy Products*. Blackwell Publishing, Oxford, UK. 167-195.
- Ohashi, Y., Ushida, K., 2009. Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. *Animal Science Journal*, 80, 361-371.

- Olasupo, N.A., Schillinger, U., Holzapfel, W.H., 2001. Studies on some technological properties of determination of predominant lactic acid bacteria isolated from Nigerian fermented foods. *Food Biotechnology*, 15, 3, 157-167.
- Ooi, L.G., Liong, M.T., 2010. Cholesterol lowering effects of probiotics and prebiotics: a review of *in vivo* and *in vitro* findings. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 2499-2522.
- Otero, M.C., Nader Macías, M.E., 2006. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> producing *Lactobacillus gasseri* isolated from the vaginal tract of cattle. *Animal Reproduction Science*, 96, 35-46.
- Ott, A., Fay, L.B., Chaintreau, A., 1997. Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 45, 850-858.
- Ott, A., Germond, J.E., Baumgartner, M., Chaintreau, A., 1999. Aroma comparisons of traditional and mild yogurts: headspace gas chromatography quantification of volatiles and origin of  $\alpha$ -diketones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2379-2385.
- Ouwehand, A.C., Vesterlund, S., 1998. Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria. In: Salminen, S., von Wright, A., Ouwehand, A., Eds. *Lactic Acid Bacteria Microbial and Functional Aspects*. Marcel Dekker Inc., New York. 375-397.
- Ouwehand, A.C., Tuomola, E.M., Tölkö, S., Salminen, S., 2001. Assessment of adhesion properties of novel probiotic strains to human intestinal mucus. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 119-126.
- Ouwehand, A.C., Salminen, S., Isolauri, E., 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 82, 279-289.
- Özdemir, P.Ö., Fettahloğlu, S., Topoyan, M., 2009. Fonksiyonel gıda ürünlerine yönelik tüketici tutumlarını belirleme üzerine bir araştırma. *Ege Akademik Bakış*, 9, 4, 1079-1099.
- Özer, B.H., Robinson, R.K., Grandison, A.S., Bell, A.E., 1998. Gelation properties of milk concentrated by different techniques. *International Dairy Journal*, 8, 793-799.
- Özer, B., Atasoy, F., 2002. Effect of addition of amino acids, treatment with  $\beta$ -galactosidase and use of heat shocked cultures on the acetaldehyde level in yoghurt. *Society of Dairy Technology*, 55, 4, 166-170.
- Pan, X., Wu, T., Zhang, L., Cai, L., Song, Z., 2009. Influence of oligosaccharides on the growth and tolerance capacity of lactobacilli to simulated stress environment. *Letters in Applied Microbiology*, 48, 362-367.
- Pan, D.D., Zeng, X.Q., Yan, Y.T., 2011. Characterisation of *Lactobacillus fermentum* SM-7 isolated from koumiss, a potential probiotic bacterium with cholesterol lowering effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 512-518.
- Pandya, A.J., Ghodke, K.M., 2007. Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt. *Small Ruminant Research*, 68, 193-206.
- Parisien, A., Allain, B., Zhang, J., Mandeville, R., Lan, C.Q., 2008. Novel alternatives to antibiotics: bacteriophages, bacterial cell wall hydrolases, and antimicrobial peptides. *Journal of Applied Microbiology*, 104, 1-13.
- Park, Y.S., Lee, J.Y., Kim, Y.S., Shin, D.H., 2002. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from feces of newborn baby and from dongchimi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2531-2536.

- Park, Y.W., Drake, M.A., 2005. Effect of 3 months frozen-storage on organic acid contents and sensory properties, and their correlations in soft goat milk cheese. *Small Ruminant Research*, 58, 291-298.
- Pelinescu, D.R., Sasarman, E., Chifiriuc, M.C., Stoica, I., Nohit, A.M., Avram, I., Serbancea, F., Dimov, T.V., 2009. Isolation and identification of some *Lactobacillus* and *Enterococcus* strains by a polyphasic taxonomical approach. *Romanian Biotechnological Letters*, 14, 2, 4225-4233.
- Pereira, D.I.A., Gibson, G.R., 2002. Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 4689-4693.
- Petersen, B.L., Dave, R.I., McMahon, D.J., Oberg, C.J., Broadbent, J.R., 2000. Influence of capsular and rropy exopolysaccharide producing *Streptococcus thermophilus* on mozzarella cheese and cheese whey. *Journal of Dairy Science*, 83, 1952-1956.
- Petti, S., Tarsitani, G., D'Arca, A.S., 2001. A randomized clinical trial of the effect of yoghurt on the human salivary microflora. *Archives of Oral Biology*, 46, 705-712.
- Pham, P.L., Dupont, I., Roy, D., Lapointe, G., Cerning, J., 2000. Production of exopolysaccharide by *Lactobacillus rhamnosus* R and analysis of its enzymatic degradation during prolonged fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 6, 2302-2310.
- Pirisi, A., Comunian, R., Urgeghe, P.P., Scintu, M.F., 2011. Sheep's and goat's dairy production in Italy: technological, chemical, microbiological and sensory aspects. *Small Ruminant Research*, 101, 102-112.
- Pisano, M.B., Patrignani, F., Cosentino, S., Guerzoni, M.E., Franz, C.M.A.P., Holzapfel, W.H., 2011. Diversity and functional properties of *Lactobacillus plantarum*-group strains isolated from Italian cheese products. *Dairy Science & Technology*, 91, 65-76.
- Pompei, A., Cordisco, L., Amaretti, A., Zanoni, S., Matteuzzi, D., Rossi, M., 2007. Folate production by bifidobacteria as a potential probiotic property. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 1, 179-185.
- Prasad, J., Gill, H., Smart, J., Gopal, P.K., 1998. Selection and characterization of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotic. *International Dairy Journal*, 8, 993-1002.
- Prasanna, P.H.P., Grandison, A.S., Charalampopoulos, D., 2012. Effect of dairy-based protein sources and temperature on growth, acidification and exopolysaccharide production of *Bifidobacterium* strains in skim milk. *Food Research International*, 47, 6-12.
- Purwandari, U., Shah, N.P., Vasiljevic, T., 2007. Effects of exopolysaccharide-producing strains of *Streptococcus thermophilus* on technological and rheological properties of set-type yoghurt. *International Dairy Journal*, 17, 1344-1352.
- Rafter, J., Bennett, M., Caderni, G., Clune, Y., Hughes, R., Karlsson, P.C., Klinder, A., O'Riordan, M., O'Sullivan, G.C., Pool Zobel, B., Rechkemmer, G., Roller, M., Rowland, I., Salvadori, M., Thijs, H., Van Loo, J., Watzl, B., Collins, J.K., 2007. Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *American Journal of Clinical Nutrition*, 85, 488-496.
- Rasic, J.L., Kurmann, J.A., 1978. Yogurt Scientific Grounds, Technology. *Manufacture and Preparations, Vol. I*. Technical Dairy Publishing House, Copenhagen. 466 p.
- Ravula, R.R., Shah, N.P., 1998. Selective enumeration of *Lactobacillus casei* from yogurts and fermented milk drinks. *Biotechnology Techniques*, 12, 11, 819-822.

- Reid, G., Jass, J., Sebulsky, M.T., McCormick, J.K., 2003. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clinical Microbiological Reviews*, 16, 4, 658-72.
- Riedel, C.U., Foata, F., Goldstein, D.R., Blum, S., Eikmanns, B.J., 2006. Interaction of bifidobacteria with Caco 2 cells-adhesion and impact on expression profiles. *International Journal of Food Microbiology*, 110, 62-68.
- Roberfroid, M.B., Bornet, F., Bouley, C., Cummings, J.H., 1995. Colonic microflora: nutrition and health. *Nutrition Reviews*, 53, 5, 127-130.
- Roberfroid, M.B., 1999. Nutritional and health benefits of inulin and oligofructose concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. *Journal of Nutrition*, 129, 1398-1401.
- Roberfroid, M.B., 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 1682-1687.
- Robinson, R.K., Tamime, A.Y., 1986. *Recent developments in yoghurt manufacture in Modern Dairy Technology*. In: Hudson, B.J.F. Ed. Elsevier Applied Science Publishers, London. 1-36.
- Rohm, H., Lechner, F., Lehner, M., 1990. Microflora of Australian natural-set yoghurt. *Journal of Food Protection*, 53, 478-480.
- Rolfe, R.D., 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *Journal of Nutrition*, 130, 396-402.
- Rosenfeldt, V., Michaelsen, K.F., Jakobsen, M., Larsen, C.N., Møller, P.L., Tvede, M., Weyrehter, H., Valerius, N.H., Paerregaard, A., 2002. Effect of probiotic Lactobacillus strains on acute diarrhoea in a cohort of non hospitalized children attending day-care centers. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 21, 417-419.
- Ross, R.P., Fitzgerald, G., Collins, K., Stanton, C., 2002. Cheese delivering biocultures-probiotic cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 57, 71-78.
- Rossi, M., Amaretti, A., Raimondi, S., 2011. Folate production by probiotic bacteria. *Nutrients*, 3, 118-134.
- Rowland, I.R., 1995. Toxicology of the colon-role of the intestinal microflora. In: Gibson, G.R., Macfarlane, G.T., Eds. *Human Colonic Bacteria: Role in Nutrition, Physiology and Pathology*. CRC Press, Boca Raton, Florida. 155-174.
- Rönkä, E., Malinen, E., Saarela, M., Rinta Koski, M., Aarnikunnas, J., Palva, A., 2003. Probiotic and milk technological properties of *Lactobacillus brevis*. *International Journal Food Microbiology*, 83, 63-74.
- Ruas Modiedo, P., Tuinier, R., Kanning, M., Zoon, P., 2002 a. Role of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* on the viscosity of fermented milks. *International Dairy Journal*, 12, 689-695.
- Ruas Modiedo, P., Hugenholtz, J., Zoon, P., 2002 b. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 12, 163-171.
- Rulikowska, A., Kilcawley, K.N., Doolan, I.A., Alonso Gomez, M., Nongonierma, A.B., Hannon, J.A., Wilkinson, M.G., 2013. The impact of reduced sodium chloride content on Cheddar cheese quality. *International Dairy Journal*, 28, 45-55.
- Rysstad, G., Abrahamsen, R.K., 1983. Fermentation of goat's milk by two DL-type mixed strain starters. *Journal of Dairy Research*, 50, 349-356.

- Rystad, G., Knutsen, W.J., Abrahamsen, R.K., 1990. Effect of threonine and glycine on the acetaldehyde formation in goat's milk yoghurt. *Journal of Dairy Research*, 57, 401-411.
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J.M., Bressollier, P., 2013. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT - Food Science and Technology*, 50, 1-16.
- Saavedra, J., 2000. Probiotics and infectious diarrhea. *American Journal of Gastroenterology* 9, 16-18.
- Salminen S., von Wright, A., 1998. *Lactic Acid Bacteria Microbiology and Functional Aspects*. Marcel Dekker Inc., New York, ABD. 617 p.
- Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y., Lee, K., 1999. Probiotics: How should they be defined? *Trends in Food Science and Technology*, 10, 107-110.
- Sameen, A., 2009. Functional and Technological Properties of Mozzarella Cheese Prepared from Cow and Buffalo Milk. Yüksek Lisans Tezi. National Institute of Food Science and Technology, University of Agriculture Faisalabad, Pakistan.
- Sanders, M.E., 1998. Overview of functional foods: Emphasis on probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 8, 341-347.
- Sanders, M.E., 1999. Probiotics. *Food Technology*, 53, 11, 67-77.
- Sanders, M.E., Huis in't Veld, J.H.J., 1999. Bringing a probiotic containing functional food to the market: microbiological, product regulatory and labeling issues. In: Konings, W.N., Kuipers, O.P., Huis in't Veld, J.H.J. Eds. Proceedings of the 6th Symposium on Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications. Kluwer Academic Publishers, Antonie van Leeuwenhoek, Veldhoven, The Netherlands. 293-316.
- Sanders, M.E., 2000. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *The Journal of Nutrition*, 130, 384-390.
- Sanz, Y., 2007. Ecological and functional implications of the acid-adaptation ability of *Bifidobacterium*: A way of selecting improved probiotic strains. *International Dairy Journal*, 17, 1284-1289.
- Sanz Sampelayo, M.R., Chilliard, Y., Schmidely, P., Boza, J., 2007. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68, 42-63.
- Sartor, R.B., 2004. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology*, 126, 1620-1633.
- Savino, F., Pelle, E., Palumeri, E., Oggero, R., Miniero, R., 2007. *Lactobacillus reuteri* (American Type Culture Collection strain 55730) versus simethicone in the treatment of infantile colic. A prospective randomized study. *Pediatrics*, 1, 124-130.
- Savran, F., Aktürk, D., Dellal, İ., Tatlıdil, F., Dellal, G., Pehlivan, E., 2011. Türkiye'de seçilmiş bazı illerde keçi sütü ve ürünleri tüketimine etkili faktörler. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17, 2, 251-256.
- Scheinbach, S., 1998. Probiotics: functionality and commercial status. *Biotechnology Advances*, 16, 581-608.
- Schirch, V., Hopkins, S., Villar, E., Angelaccio, S., 1985. Serine hydroxymethyltransferase from *Escherichia coli*: purification and properties. *Journal of Bacteriology*, 163, 1-7.
- Schnürer, J., Magnusson, J., 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 70-78.

- Schroeter, J., Klaenhammer, T., 2009. Genomics of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 292, 1-6.
- Seçkin, A.K., Tosun, H., Arıtürk, R., 2010. Biyokorumanın süt endüstrisinde kullanım olanakları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5, 3, 36-46.
- Seçkin, A.K., Baladura, E., 2011. Süt ve süt ürünlerinin fonksiyonel özellikleri. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7, 1, 27-38.
- Senaka Ranadheera, C., Evans, C.A., Adams, M.C., Baines, S.K., 2012. Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. *Food Chemistry*, 135, 1411-1418.
- Shah, N., Jelen, P., 1990. Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. *Journal of Food Science*, 55, 2, 506-509.
- Shah, N.P., 2000. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83, 894-907.
- Shah, N.P., Ravula, R.R., 2000. Influence of water activity on fermentation, organic acids production and viability of yoghurt and probiotic bacteria. *Australian Journal of Dairy Technology*, 55, 3, 127-131.
- Shihata, A., Shah, N.P., 2000. Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 10, 401-408.
- Shihata, A., Shah, N.P., 2002. Influence of addition of proteolytic strains of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* to commercial ABT starter cultures on texture of yoghurt, exopolysaccharide production and survival of bacteria. *International Dairy Journal*, 12, 765-772.
- Shuhaimi, M., Yazid, A.M., Ali, A.M., Ghazali, M.H., Zaitun, H., Nur Atiqah, N.A., 1999. Acid adaptation of Bifidobacteria isolated from infant stools to simulated pH of human stomach. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2, 4, 1203-1206.
- Simmering, R., Blaut, M., 2001. Pro- and prebiotics-the tasty guardian angels? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 55, 19-28.
- Singh, J., Rivenson, A., Tomita, M., Shimamura, S., Ishibashi, N., Reddy, B.S., 1997. *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus* producing intestinal bacteria inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 18, 4, 833-841.
- Siripatrawan, U., Harte, B.R., 2007. Solid phase microextraction/gas chromatography/mass spectrometry integrated with chemometrics for detection of Salmonella typhimurium contamination in a packaged fresh vegetable. *Analytica Chimica Acta*, 581, 63-70.
- Sjögren, J., Magnusson, J., Broberg, A., Schnürer, J., Kenne, L., 2003. Antifungal 3-Hydroxy Fatty Acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 12, 7554-7557.
- Slacanac, V., Bozanic, R., Hardi, J., Rezessy Szabo, J., Lucan, M., Krstanovic, V., 2010. Nutritional and therapeutic value of fermented caprine milk. *International Journal of Dairy Technology*, 63, 2, 171-189.
- Smit, G., Smit, B.A., Engels, W.J.M., 2005. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 3, 591-610.
- Songür, Y., 2005. Deneysel akut pankreatit ve kolit modellerinde probiyotiklerin protektif etkinliğinin araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri, 1054-M-05.



- Soysal, A., 2007. Enterokoklar. *Çocuk Enfeksiyon Dergisi*, 1, 39-42.
- Sönmez, N., Çakmakçı, M.L., Karahan, A.G., 1999. Probiyotik kullanımı ve ülke şartlarında geliştirilmesi. Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Müdürlüğü, Araştırma Projesi (yayınlanmamış), Ankara.
- Stadhouders, J., 1986. The control of cheese starter activity. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 40, 155-173.
- Stanton, C., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Van Sinderen, D., 2005. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*, 16, 198-203.
- Strozzi, G.P., Mogna, L., 2008. Quantification of folic acid in human feces after administration of *Bifidobacterium* probiotic strains. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 42, 179-184.
- Ström, K., 2005. Fungal Inhibitory Lactic Acid Bacteria Characterization and Application of *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393. Doktora Tezi. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, İsveç.
- Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Sorrentino, E., Grazia, L., Pacifico, S., Coppola, R., 2005. Bile salt and acid tolerance of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *FEMS Microbiology Letters*, 244, 129-137.
- Sung, C., Kim, B.G., Kim, S., Joo, H.S., Kim, P.I., 2009. Probiotic potential of *Staphylococcus hominis* MBBL 2-9 as anti-*Staphylococcus aureus* agent isolated from the vaginal microbiota of a healthy woman. *Journal of Applied Microbiology*, 108, 908-916.
- Šušković, J., Kos, B., Matosic, S., Maric, V., 1997. Probiotic Properties of *Lactobacillus plantarum* L4. *Food Technology and Biotechnology*, 35, 2, 107-112.
- Šušković, J., Kos, B., Goreta, J., Matošić, S., 2001. Role of lactic acid bacteria and bifidobacteria in symbiotic effect. *Food Technology and Biotechnology*, 39, 227-235.
- Szajewska, H., Mrukowicz, J.Z., 2001. Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 33, 2, 17-25.
- Şenel, E., Atamer, M., Gürsoy, A., Öztekin, F.Ş., 2011. Changes in some properties of strained (süzme) goat's yoghurt during storage. *Small Ruminant Research*, 99, 171-177.
- Şenol, A., İşler, M., Karahan, A.G., Kiliç, G.B., Kuleaşan, H., Kaya, S., Keskin, M., Gören, İ., Sarıtaş, U., Arıdoğan, C.B., Delibaş, N., 2011 a. Preventive effect of probiotics and alpha-tocopherol on the ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Journal of Medicinal Food*, 14, 1-2, 173-179.
- Şenol, A., İşler, M., Karahan, A.G., Başığit Kiliç, G., Kuleaşan, H., Gören, İ., Sarıtaş, U., Kaya, S., Ciris, M., Aktürk, O., Arıdoğan, C.B., Demirin, H., Cakmakçı, M.L., 2011 b. Effect of the probiotics on aspirin-induced gastric mucosal lesions. *Journal of Turkish Gastroenterology*, 22, 1, 18-26.
- Takahashi, N., Xiao, J.Z., Miyaji, K., Yaeshiima, T., Hiramatsu, A., Iwatsuki, K., Kokubo, S., Hosono, A., 2004. Selection of acid tolerant bifidobacteria and evidence for a low-pH-inducible acid tolerance response in *Bifidobacterium longum*. *Journal of Dairy Research*, 71, 340-345.
- Tambekar, D.H., Bhutada, S.A., 2010. Acid and bile tolerance, antibacterial activity, antibioticresistance and bacteriosins activity of probiotic *Lactobacillus* species. *Resent Research Science and Technology*, 2, 4, 94-98.

- Tamime, A.Y., Deeth, H.C., 1980. Yoghurt: technology and biochemistry. *Journal of Food Protection*, 43, 939-977.
- Tamime, A.Y., Robinson, R.K., 2001. *Yoghurt Science and Technology*. Cambridge, Woodhead Publishing Limited. 587 p.
- Tamime, A.Y., Saarela, M., Korslund Søndergaard, A., Mistry, V.V., Shah, N.P., 2005. Production and Maintenance of Viability of Probiotic Microorganisms In: Tamime, A.Y., Ed. *Dairy Products, Probiotic Dairy Products*. Blackwell, UK. 39-63.
- Tannock G.W., Fuller, R., Smith, S.L., Hall, M.A., 1990. Plasmid profiling of members of the family Enterobacteriaceae, lactobacilli, and bifidobacteria to study the transmission of bacteria from mother to infant. *Journal of Clinical Microbiology*, 28, 1225-1228.
- Tannock, G.W., 1995. *Normal Microflora: An Introduction to Microbes Inhabiting the Human Body*. Chapman & Hall, London. 119 p.
- Tannock, G. W., 1997. Probiotic properties of lactic acid bacteria: plenty of scope for fundamental R&D. *Trends in Biotechnology*, 15, 7, 270-274.
- Taş, E., Erginkaya, Z., 2008. Bazı Probiyotik Laktik Asit Bakterilerinin Escherichia coli O157:H7 üzerine inhibisyon Etkisi. 10. Gıda Konresi, 21-23 Mayıs, Erzurum, Türkiye. 877-880.
- Temmerman, R., Pot, B., Huys, G., Swings, J., 2003. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *International Journal of Food Microbiology*, 81, 1-10.
- Tharumaraj, N., Shah, N.P., 2003. Selective Enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Propionibacteria*. *Journal of Dairy Science*, 86,7, 2288-2296.
- Tharumaraj, N., Shah, N.P., 2009. Antimicrobial effects of probiotics against selected pathogenic and spoilage bacteria in cheese-based dips. *International Food Research Journal*, 16, 261-276.
- Thornton, G. M., 1996. Probiotic bacteria Selection of Lactobacillus and Bifidobacterium strains from the healthy human gastrointestinal tract: characterization of novel Lactobacillus derived antibacterial protein. Doktora Tezi. National University of Ireland, Cork, Ireland.
- Tieking, M., Korakli, M., Ehrmann, M.A., Gänzle, M.G., Vogel, R.F., 2003. In situ production of exopolysaccharides during sourdough fermentation by cereal and intestinal isolates of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 2, 945-952.
- Topal, Ş., 1994. Yoğurdun mikrobiyolojik kontrollerinde karşılaşılan yanlışlar ve sorunlar. III. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 2-3 Haziran, 1995, İstanbul. 429.
- Troelsen, J.T., 2005. Adult-type hypolactasia and regulation of lactase expression. *Biochimica Biophysica Acta*. 1723, 19-32.
- Tunail, N., Demirtas, D., Durlu Özkaya, F., 2000. Yoğurt Fabrikalarında Görülen Bakteriyofaj Problemi, Nedenleri ve Çözüm Önerileri. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Tekirdağ. 113-125.
- Tuomola, E., Crittenden, R., Playne, M., Isolauri, E., Salminen, S., 2001. Quality assurance criteria for probiotic bacteria. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 393-398.
- Twetman, S., Stecksén-Blicks, C., 2008. Probiotics and oral health effects in children. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 18, 3-10.

- Tziboula Clarke, A., 2003. Goat milk. In: Roginnski, J.W., Fuquay, P.F., Eds. *Encyclopedia of dairy sciences, Volume 2*. Woodhead Publishing Ltd, London, UK. 1270-1279.
- Urala, N., Lähteenmäki, L., 2003. Reasons behind consumers functional food choices. *Nutrition and Food Science*, 33, 148-158.
- Urala, N., Lähteenmäki, L., 2004. Attitudes behind consumers willingness to use functional foods. *Food Quality and Preference*, 15, 793-803.
- Üçüncü, M., 2005. *Süt ve Mamülleri Teknolojisi*. Meta Basım, İzmir. 434-435.
- Üçüncü, M., 2008. *A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi*. Meta Basım, İzmir. 543 s.
- Valenzuela, A.S., Benomar, N., Abriouel, H., Cañamero, M.M., Gálvez, A., 2010. Isolation and identification of *Enterococcus faecium* from seafoods: Antimicrobial resistance and production of bacteriocin-like substances. *Food Microbiology*, 27, 955-961.
- Van Geel-Schutten, G.H., Flesch, F., ten Brink, B., Smith, M.R., Dijkhuizen, L., 1998. Screening and characterization of *Lactobacillus* strains producing large amounts of exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50, 697-703.
- Vargas, M., Cháfer, M., Albors, A., Chiralt, A., González Martínez, C., 2008. Physicochemical and sensory characteristics of yoghurt produced from mixtures of cows' and goats' milk. *International Dairy Journal*, 18, 1146-1152.
- Vasiljevic, T., Kealy, T., Mishra, V.K., 2007. Effects of  $\beta$ -glucan addition to a probiotic containing yogurt. *Journal of Food Science*, 72, 7, 405-411.
- Vegarud, G.E., Devold, T.G., Opheim, R., Loeding, E., Svenning, C., Abrahamsen, R.K., Lien, S., Langsrud, T., 1999. Genetic variants of Norwegian goat's milk composition, micellar size and renneting properties. *International Dairy Journal*, 9, 367-368.
- Verdenelli, M.C., Ghelfi, F., Silvi, S., Orpianesi, C., Cecchini, C., Cresci, A., 2009. Probiotic properties of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* isolated from human faeces. *European Journal of Nutrition*, 48, 355-363.
- Vinderola, C.G., Bailo, N., Reinheimer, J.A., 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. *Food Research International*, 33, 2, 97-102.
- Vinderola, C.G., Costa, G.A., Regenhardt, S., Reinheimer, J.A., 2002. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 12, 7, 579-589.
- Vinderola, C.G., Reinheimer, J.A., 2003. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative "in vitro" study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*, 36, 895-904.
- Vinderola, G., Marcó, M.B., Guglielmotti, D.M., Perdigón, G., Giraffa, G., Reinheimer, J., Quiberoni, A., 2007. Phage-resistant mutants of *Lactobacillus delbrueckii* may have functional properties that differ from those of parent strains. *International Journal of Food Microbiology*, 116, 96-102.
- Vizoso Pinto, M.G., Franz, C.M.A.P., Schillinger, U., Holzapfel, W.H., 2006. *Lactobacillus* spp. with in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. *International Journal of Food Microbiology*, 109, 3, 205-214.
- Walker, W.A., Duffy, L.C., 1998. Diet and bacterial colonization: Role of probiotics and prebiotics. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 9, 668-675.

- Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A., Van Boekel, M.A.J.S., 1999. *Dairy Technology*. Marcel Dekker Inc, New York. 727 p.
- Wang, K.Y., Li, S.N., Liu, C.S., Perng, D.S., Su, Y.C., Wu, D.C., Jan, C.M., Lai, C.H., Wang, T.N., Wang, W.M., 2004. Effects of ingesting Lactobacillus- and Bifidobacterium-containing yogurt in subjects with colonized Helicobacter pylori. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 737-741.
- Wang, W., Bao, Y., Hendricks, G.M., Guo, M., 2012. Consistency, microstructure and probiotic survivability of goats' milk yoghurt using polymerized whey protein as a co-thickening agent. *International Dairy Journal*, 24, 113-119.
- Welman, A.D., Maddox, I.S., 2003. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*, 21, 269-274.
- Wei, H., Wolf, G., Hammes, W.P., 2006. Indigenous microorganisms from iceberg lettuce with adherence and antagonistic potential for use as protective culture. *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 7, 294-301.
- West, D.B., Delany, J.P., Camet, P.M., Blohm, F., Truett, A.A., Scimeca, J., 1998. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *The American Journal of Physiology*, 275, 667-672.
- WHO, 2011. *Cardiovascular Disease; Fact sheet N°317*, 2011 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/print.html> Erişim tarihi: 20.12.2012.
- Woodmansey, E.J., 2007. Intestinal bacteria and ageing. *Journal of Applied Microbiology*, 102, 1178-1186.
- Wouters, J.T.M., Ayad, E.H.E., Hugenholtz, J., Smit, G., 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 12, 91-109.
- Wu, H., Hulbert, G.J., Mount, J.R., 2000. Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1, 3, 211-218.
- Xanthopoulos, V., Litopoulou Tzanetaki, E., Tzanetakis, N., 2000. Characterization of lactobacillus isolates from infant faeces as dietary adjuncts. *Food Microbiology*, 17, 205-215.
- Yaman, A., Gökalp, H.Y., Çon, A.H., 1998. Some characteristics of lactic acid bacteria present in commercial sucuk samples. *Meat Science*, 49, 4, 387-397.
- Yang, Z., 2000. Antimicrobial Compounds and Extracellular Polysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: Structures and Properties. Akademik Tez. University of Helsinki, Helsinki.
- Yavuzdurmaz, H., 2007. Isolation, Characterization, Determination of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria from Human Milk. Yüksek Lisans Tezi. İzmir Teknoloji Üniversitesi, İzmir, Türkiye.
- Yaygın, H., Kılıç, S., 1993. *Süt Endüstrisinde Saf Kültür Kullanımı*. Altındağ Matbaacılık, İzmir. 108 s.
- Yazid, A.M., Salina, A.B., Shuhaimi, M., Osman, H., Normah, J., 1999. Inhibitory effects of probiotic bacteria against selected food-borne pathogens. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2,3, 660-663.
- Yerlikaya, O., Açu, M., Kınık, Ö., 2011. AB uyum sürecinde koyun ve keçi sütlerinde kaliteye bağlı temel ve teşvik edici kriterler. *Süt Dünyası*, Erişim Tarihi: 17.10.2012.

- Yesovitch, R., Cohen, A., Szilagy, A., 2004. Failure to improve parameters of lactose maldigestion using the multiprobiotic product VSL3 in lactose maldigesters: a pilot study. *Canadian Journal of Gastroenterology*, 18, 83-86.
- Yıldız, F., 2010. Overview of Yogurt and Other Fermented Dairy Products. In: Yıldız F., Ed. *Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products*. CRC Press Taylor and Francis Group, US. 1-45.
- Yüksekdağ, Z.N., Beyatlı, Y., 2003. Kefir mikroflorası ile laktik asit bakterilerinin metabolik, antimikrobial ve genetik özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1, 2, 49-69.
- Yüksekdağ, Z.N., Beyatlı, Y., Aslım, B., 2004. Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefir with natural probiotic. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 37, 6, 663-667.
- Yüksekdağ, Z.N., Aslım, B., 2008. Influence of Different Carbon Sources on Exopolysaccharide Production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (B3, G12) and *Streptococcus thermophilus* (W22). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51, 581-585.
- Yüksel, Z., Erdem, Y.K., 2010. The influence of transglutaminase treatment on functional properties of set yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 63, 1, 86-97.
- Zago, M., Fornasari, M.E., Carminati, D., Burns, P., Suárez, V., Vinderola, G., Reinheimer, J., Giraffa, G., 2011. Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiology*, 28, 5, 1033-1040.
- Zare, F., Champagne, C.P., Simpson, B.K., Orsat, V., Boye, J.I., 2012. Effect of the addition of pulse ingredients to milk on acid production by probiotic and yoghurt starter cultures. *LWT - Food Science and Technology*, 45, 155-160.
- Zhong, Y., Huang, C.Y., He, T., Harmsen, H.M., 2006. Effect of probiotics and yogurt on colonic microflora in subjects with lactose intolerance. *Journal of Hygiene Research*, 35, 5, 587-91.
- Ziarno, M., Sekul, E., LafrayaAguado, A., 2007. Cholesterol assimilation by commercial yoghurt starter cultures. *ACTA Scientiarum Polonorum-Food Science and Human Nutrition*, 6, 1, 83-94.
- Ziarno, M., Makowska, M., 2008. Viability of technical microflora in yoghurt cream during refrigerated storage. *Medycyna Weterynaryjna*, 64, 461-464.
- Zocco, M.A., dal Verme, L.Z., Cremonini, F., Piscaglia, A.C., Nista, E.C., Candelli, M., Novi, M., Rigante, D., Cazzato, I.A., Ojetti, V., Armuzzi, A., Gasbarrini, G., Gasbarrini, A., 2006. Efficacy of *Lactobacillus* GG in maintaining remission of ulcerative colitis. *Alimentary and Pharmacology Therapeutics*, 23, 11, 1567-1574.
- Ziemer, C.J., Gibson, G.R., 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional foods concept: Perspectives and future strategies. *International Dairy Journal*, 8, 473-479.
- Zubillaga, M., Weill, R., Postaire, E., Goldman, C., Caro, R., Boccio, J., 2001. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. *Nutrition Research*, 21, 569-579.

## **EKLER**

EK-1 *L. johnsonii* grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH).

<b>Bakteri no</b>	<b>16. Saat</b>	<b>36.saat</b>
12	6,33±0,21	5,67±0,21
311	3,88±0,01	3,64±0,02
312	4,26±0,00	3,92±0,08
41	4,03±0,22	3,77±0,11
42	3,97±0,15	3,69±0,05
51	4,12±0,01	3,79±0,01
52	4,21±0,16	3,77±0,03
541	4,01±0,01	3,71±0,01
542	4,06±0,11	3,76±0,05
552	3,96±0,02	3,73±0,01
531	4,02±0,08	3,75±0,06
532	4,05±0,02	3,74±0,01
62	4,27±0,14	3,76±0,06
63	3,93±0,03	3,73±0,01
64	4,38±0,46	3,92±0,16
711	4,05±0,07	3,80±0,02
72	4,23±0,09	3,76±0,04
73	4,09±0,07	3,81±0,01
74	3,97±0,04	3,79±0,02
12D	4,13±0,04	3,64±0,01
12E	4,10±0,05	3,76±0,02
13A	5,55±0,04	4,91±0,01
13B	6,08±0,35	5,69±0,69
14A	3,67±0,09	3,49±0,01
15A	3,81±0,04	3,79±0,15
15B	4,47±0,16	3,95±0,02
15C	3,82±0,06	3,76±0,02
16B	4,03±0,13	3,79±0,01
17C	4,02±0,03	3,58±0,00
18B	4,67±0,05	4,06±0,03
19A	6,33±0,08	5,66±0,31
19B	4,18±0,04	3,74±0,04
20B	3,72±0,10	3,51±0,05
20C	4,95±0,02	4,17±0,03
21A	3,93±0,01	3,51±0,04
21B	4,34±0,51	3,81±0,20
21C	3,85±0,00	3,50±0,03
22A	3,67±0,01	3,56±0,01
22B	4,02±0,03	3,73±0,02
23A	5,58±0,05	5,12±0,08
23C	4,07±0,04	3,78±0,01

EK-1 devam. *L. johnsonii* grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin süti koagüle etme özellikleri (pH).

Bakteri no	16. Saat	36.saat
24A	4,25±0,11	3,68±0,01
24C	4,35±0,04	3,89±0,01
25A	3,64±0,03	3,45±0,03
25B	3,77±0,04	3,65±0,02
26A	3,82±0,01	3,51±0,00
26B	5,42±0,01	5,29±0,07
27C	3,72±0,02	3,43±0,01
28A	3,80±0,02	3,80±0,01
28B	3,96±0,03	3,71±0,01
28C	3,90±0,04	3,65±0,01
29B	3,96±0,03	3,73±0,03
30A	3,90±0,00	3,56±0,08
30B	4,49±0,04	3,84±0,07
30C	4,25±0,12	3,87±0,05
31A	4,16±0,06	3,56±0,02
31B	3,92±0,02	3,71±0,01
31C	3,51±0,01	3,43±0,01
31D	3,94±0,04	3,58±0,05
31E	3,73±0,03	3,53±0,01
32B	4,20±0,25	3,78±0,04
32D1	4,30±0,64	3,70±0,02
32D2	4,13±0,04	3,67±0,02
33A	4,80±0,14	3,92±0,11
33B1	4,45±0,11	3,83±0,04
33B2	4,27±0,01	3,79±0,02
33C	4,33±0,18	3,79±0,04
34A	4,16±0,05	3,79±0,03
34B	4,10±0,07	3,73±0,02
35A	4,77±0,32	4,19±0,00
35B	5,06±0,16	3,83±0,13
36A1	4,20±0,01	3,68±0,03
36A2	4,13±0,04	3,74±0,01
36B	4,29±0,01	3,93±0,04
36C	4,41±0,04	4,02±0,06
37A	4,73±0,27	4,00±0,06
37B	4,70±0,33	4,10±0,06
38A	3,81±0,16	3,73±0,04
38B	4,23±0,21	3,79±0,01
38C	3,84±0,08	3,62±0,04
39A	3,94±0,23	3,72±0,06
39C	4,10±0,04	3,80±0,04
40A1	4,22±0,16	3,86±0,01
40A2	4,15±0,11	3,87±0,09
40B	4,11±0,18	3,80±0,06
40C	4,09±0,26	3,85±0,14



EK-2 *L. rhamnosus* GG grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH).

<b>Bakteri no</b>	<b>16. Saat</b>	<b>36.saat</b>
11	6,31±0,24	3,77±0,13
12	6,27±0,06	5,66±0,79
31	4,05±0,01	3,73±0,11
41	3,95±0,01	3,74±0,00
45	3,88±0,03	3,82±0,04
471	4,05±0,00	3,85±0,04
472	4,23±0,06	3,84±0,07
48	3,98±0,11	3,81±0,04
52	3,29±0,07	3,29±0,00
53	3,85±0,47	3,39±0,01
12A	3,80±0,06	3,73±0,00
12B	3,80±0,00	3,65±0,04
13A	5,16±0,06	4,63±0,01
13B	5,32±0,06	4,76±0,05
14A	4,26±0,04	3,87±0,01
14B	4,05±0,01	3,72±0,01
15A	3,94±0,02	3,78±0,01
16A	3,90±0,01	3,69±0,01
17A	5,40±0,02	4,93±0,03
17D	4,65±0,08	3,63±0,24
18A	5,58±0,19	4,72±0,00
18B	4,64±0,04	4,08±0,02
19A	5,18±0,08	4,87±0,01
19B	4,91±0,05	4,28±0,21
20A	4,93±0,02	4,27±0,10
20B	3,60±0,02	3,53±0,01
20C	4,88±0,07	3,96±0,02
21A	4,54±0,03	4,06±0,04
21B	3,96±0,01	3,79±0,03
21C	3,86±0,00	3,76±0,00
23A	3,62±0,02	3,56±0,0
24A	3,67±0,04	3,69±0,01
24C	3,74±0,04	3,73±0,02
25A	4,78±0,01	4,71±0,07
25B	3,70±0,04	3,59±0,01
26A	3,70±0,01	3,50±0,00
28A	3,98±0,04	3,80±0,01
28B	3,97±0,01	3,86±0,02
30A	3,61±0,00	3,53±0,00
31A	3,85±0,08	3,67±0,01
31B	3,91±0,37	4,01±0,02

EK-2 devam. *L. rhamnosus* GG grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH).

<b>Bakteri no</b>	<b>16. Saat</b>	<b>36.saat</b>
<b>31D</b>	3,92±0,03	3,68±0,02
<b>32A</b>	4,25±0,15	3,85±0,20
<b>32B</b>	4,07±0,08	3,71±0,00
<b>32C</b>	4,09±0,19	3,68±0,05
<b>33A</b>	4,57±0,23	3,79±0,01
<b>33B</b>	4,05±0,01	3,67±0,02
<b>33C</b>	4,29±0,08	3,82±0,02
<b>34A</b>	4,07±0,04	3,70±0,01
<b>36A</b>	3,89±0,26	3,62±0,06
<b>36B</b>	4,56±0,23	3,96±0,00
<b>36C</b>	4,62±0,05	4,08±0,11
<b>37B</b>	4,70±0,09	4,02±0,03
<b>38A</b>	4,15±0,25	3,74±0,13
<b>38B</b>	4,23±0,22	3,92±0,03
<b>38C</b>	4,48±0,13	4,02±0,08
<b>39A</b>	4,39±0,16	3,88±0,06

EK-3 *L. casei* grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH).

Bakteri no	16. Saat	36.saat
11	6,34±0,27	6,11±1,17
12	6,27±0,13	6,17±0,37
3A	3,71±0,02	3,66±0,02
3B	3,37±0,03	3,32±0,01
4A	3,88±0,05	3,74±0,00
47	5,85±0,17	5,18±0,77
7B	4,35±0,05	3,74±0,03
7C	4,40±0,04	3,78±0,01
7E	4,01±0,00	3,72±0,00
9A	5,87±0,04	5,81±0,01
12A	3,89±0,01	3,73±0,02
12B	3,89±0,01	3,74±0,03
12C	4,17±0,01	3,79±0,00
13B	5,10±0,01	4,79±0,05
14A	4,59±0,16	4,04±0,04
14B	4,48±0,07	3,91±0,01
14C	3,81±0,01	3,52±0,02
15A	4,86±0,08	4,26±0,05
15B	4,70±0,14	4,13±0,04
16A	3,72±0,02	3,68±0,02
16B	3,94±0,06	3,78±0,01
18A	4,30±0,05	4,05±0,00
18B	4,61±0,06	3,99±0,01
18C	4,04±0,05	3,83±0,01
20A	3,84±0,03	3,56±0,01
20B	4,36±0,16	3,85±0,08
20C	4,81±0,22	4,03±0,02
21A	4,07±0,05	3,83±0,01
21B	3,95±0,4	3,73±0,01
22A	3,62±0,01	3,57±0,02
22B	4,41±0,07	3,93±0,08
22C	4,02±0,21	3,76±0,06
23B	3,76±0,01	3,65±0,01
24A	3,82±0,03	3,70±0,01
24B	4,18±0,03	3,83±0,02
24C	3,74±0,02	3,73±0,02
25A	3,97±0,04	3,67±0,01
25B	4,16±0,03	3,78±0,06
26A	3,70±0,03	3,77±0,00
26B	4,01±0,02	3,63±0,02
26C	3,85±0,00	3,71±0,01

EK-3 devam. *L. casei* grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH).

<b>Bakteri no</b>	<b>16. Saat</b>	<b>36.saat</b>
27A	4,33±0,06	3,84±0,03
28B	4,05±0,01	3,80±0,07
28A	4,02±0,01	3,77±0,00
28C	4,86±0,21	4,21±0,01
29A	4,69±0,06	4,11±0,15
29B	3,93±0,09	3,72±0,01
29C	4,52±0,42	3,87±0,09
30A	4,39±0,01	3,98±0,01
30B	3,93±0,30	3,64±0,04
31A	4,27±0,00	3,96±0,08
31B	4,22±0,17	3,96±0,04
32A	4,27±0,19	3,91±0,03
32C	4,34±0,20	3,92±0,13
33A	4,05±0,07	3,75±0,03
33B	4,11±0,27	3,81±0,04
34A	3,97±0,01	3,75±0,14
34B	4,29±0,44	3,88±0,04
34C	4,09±0,06	3,66±0,09
35A	4,86±0,25	4,11±0,04
35B	3,70±0,01	3,63±0,02
36A	4,58±0,06	3,97±0,01
36B	4,03±0,11	3,67±0,01
37A	4,09±0,05	3,57±0,03
37B	4,10±0,06	3,57±0,12
37C	3,82±0,02	3,68±0,02
38A	4,13±0,00	4,01±0,01
38B	4,06±0,04	3,76±0,04
38C	4,63±0,11	3,98±0,01
39A	4,06±0,06	3,67±0,13
39B	4,42±0,23	4,04±0,00
39C	4,11±0,05	3,78±0,07
40A	4,35±0,05	3,83±0,04
40B	4,51±0,13	3,85±0,13

EK-4 *L. acidophilus* grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH).

Bakteri no	16. Saat	36.saat
1A	6,14±0,42	5,00±0,22
1B	6,36±0,17	6,13±0,14
2A	6,10±0,12	5,78±0,43
2B	6,32±0,25	6,03±0,04
3A	3,69±0,01	3,62±0,05
3C	4,06±0,02	3,69±0,02
3D	3,28±0,03	3,29±0,01
4B	3,68±0,01	3,60±0,01
4C	4,07±0,05	3,92±0,00
4E	4,03±0,00	3,88±0,03
5A	3,35±0,01	3,27±0,01
6A	3,28±0,02	3,27±0,01
7C	4,24±0,09	3,79±0,02
7D	3,44±0,04	3,30±0,01
7F	3,43±0,04	3,31±0,05
9A	5,96±0,00	5,70±0,33
9B	6,14±0,44	5,79±0,29
12A	4,33±0,02	3,85±0,04
12B	3,68±0,03	3,63±0,00
13A	5,01±0,02	4,77±0,01
13B	3,35±0,01	3,30±0,01
13C	5,87±0,02	3,88±0,04
14A	4,44±0,08	4,00±0,00
14B	4,25±0,00	3,97±0,02
14C	4,10±0,11	3,83±0,02
15A	3,97±0,04	3,83±0,01
15B	4,45±0,06	3,98±0,04
16A	4,18±0,07	3,83±0,06
16B	3,87±0,04	3,84±0,01
16C	3,84±0,00	3,78±0,01
17A	4,89±0,04	4,01±0,05
17B	3,99±0,01	3,74±0,03
18A	4,15±0,05	3,83±0,01
18B	3,81±0,04	3,73±0,05
19A	4,36±0,03	3,93±0,02
19B	4,07±0,07	3,70±0,21
20A	4,81±0,07	4,01±0,01
20B	3,85±0,06	3,68±0,01
21A	4,25±0,01	3,84±0,01
21B	4,03±0,01	3,84±0,00
21C	3,97±0,03	3,81±0,03

EK-4 devam. *L. acidophilus* grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH).

Bakteri no	16. Saat	36.saat
22A	3,74±0,01	3,70±0,01
22B	3,53±0,01	3,59±0,01
22C	3,79±0,00	3,70±0,14
23A	3,99±0,05	3,79±0,01
23B	3,86±0,02	3,68±0,01
24A	4,39±0,02	3,94±0,01
24B	3,94±0,05	3,81±0,04
25A	3,98±0,05	3,80±0,00
25B	4,02±0,03	3,81±0,00
26A	4,05±0,07	3,73±0,01
26B	4,14±0,05	3,88±0,03
26C	3,89±0,12	3,67±0,01
27A	3,79±0,04	3,58±0,01
27B	3,86±0,06	3,68±0,01
27C	3,78±0,03	3,52±0,01
28A	4,24±0,28	3,88±0,17
28B	3,95±0,08	3,83±0,08
29A	4,68±0,08	4,08±0,01
29B	3,97±0,07	3,80±0,04
29C	4,12±0,02	3,80±0,00
30A	4,60±0,14	4,00±0,07
30C	4,54±0,09	3,98±0,03
31A	3,72±0,01	3,53±0,01
32A	4,43±0,08	4,02±0,05
33A	4,90±0,01	3,72±0,06
33B	4,01±0,37	3,72±0,13
34A	3,99±0,05	3,70±0,09
34B	3,91±0,11	3,78±0,06
35A	5,03±0,11	4,07±0,10
35B	4,78±0,10	4,09±0,25
36A	3,71±0,01	3,67±0,00
37A	4,45±0,06	3,84±0,04
37B	3,72±0,01	3,58±0,00
37C	4,15±0,18	3,68±0,02
38A	3,91±0,21	3,72±0,03
38B	4,30±0,07	3,92±0,15
39A	4,61±0,74	4,06±0,25
39B	4,03±0,04	3,78±0,03
39C	4,60±0,23	4,03±0,13
40A	3,99±0,10	3,73±0,16
40B	4,24±0,33	3,98±0,25
40C	4,26±0,35	3,89±0,13

EK-5 *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH).

<b>Bakteri no</b>	<b>16. Saat</b>	<b>36.saat</b>
<b>41</b>	4,12±0,17	3,74±0,25
<b>7A</b>	4,51±0,04	4,17±0,04
<b>12B</b>	3,45±0,11	3,22±0,04
<b>13A</b>	5,10±0,06	4,64±0,08
<b>15A</b>	4,23±0,00	3,94±0,03
<b>16A</b>	4,20±0,03	3,91±00,01
<b>16B</b>	4,83±0,58	3,82±0,10
<b>17B</b>	4,90±0,20	4,02±0,23
<b>17D</b>	6,44±0,62	3,71±0,05
<b>18A</b>	4,68±0,11	3,84±0,07
<b>22B</b>	6,40±0,23	3,60±0,11
<b>27A</b>	4,02±0,13	3,28±0,08
<b>27B</b>	3,05±0,90	3,28±0,05
<b>27C</b>	4,45±0,93	3,29±0,10
<b>34A</b>	4,48±0,53	3,71±0,01
<b>35C</b>	4,72±0,18	4,69±0,38
<b>37A</b>	4,49±0,01	3,78±0,17
<b>37C</b>	4,48±0,00	3,92±0,08
<b>39A</b>	4,25±0,05	3,81±0,01

EK-6 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* grubuna özgü besiyerinden izole edilen bakterilerin sütü koagüle etme özellikleri (pH).

<b>Bakteri no</b>	<b>16. Saat</b>	<b>36.saat</b>
<b>12</b>	6,48±0,08	5,98±0,62
<b>1B</b>	6,18±0,05	5,46±0,35
<b>41</b>	6,16±00,03	5,89±0,24
<b>13A</b>	5,08±0,22	4,85±0,15
<b>13B</b>	5,16±0,11	4,64±0,18
<b>24A</b>	4,14±0,12	3,67±0,00
<b>24C</b>	4,64±0,20	3,76±0,03
<b>25B</b>	4,39±0,27	3,72±0,02
<b>26A</b>	4,23±0,50	3,55±0,08
<b>29A</b>	4,03±0,16	3,67±0,13
<b>29B</b>	4,21±0,47	3,60±0,16
<b>31A</b>	3,99±0,11	3,62±0,01
<b>31B</b>	3,79±0,30	3,51±0,09
<b>31C</b>	4,06±0,05	3,57±0,06
<b>32C</b>	4,15±0,01	3,79±0,04
<b>33A</b>	4,90±0,30	4,08±0,52
<b>33B</b>	6,40±0,04	5,74±0,53
<b>33C</b>	4,62±0,03	3,77±0,15
<b>33D</b>	6,33±0,07	6,35±0,38
<b>35B</b>	6,30±0,06	5,64±0,38
<b>39A</b>	4,80±0,08	3,95±0,25



EK-7 Laktik asit üretiminin belirlenmesi için seçilen izolatların 16 saate kadar sütü koagüle etme özellikleri (pH).

Bakteri no La	pH	Bakteri no Lc	pH	Bakteri no Lj	pH	Bakteri no Lr	pH	Bakteri no St	pH	Bakteri no Lb	pH
3A	3,69±0,01	3A	3,71±0,02	311-2	3,88±0,01	45	3,88±0,03	41	4,12±0,17	26A	4,23±0,50
3D	3,28±0,03	3B	3,37±0,03	63	3,93±0,03	52	3,29±0,07	12B	3,45±0,11	29B	4,21±0,47
4B	3,68±0,01	4A	3,88±0,05	14A	3,67±0,09	53	3,85±0,47	15A	4,23±0,00	31A	3,99±0,11
5A	3,35±0,01	12A	3,89±0,01	15A	3,81±0,04	12A	3,80±0,06	16A	4,20±0,03	31B	3,79±0,30
6A	3,28±0,02	12B	3,89±0,01	15C	3,82±0,06	12B	3,80±0,00	27B	3,05±0,90		
7D	3,44±0,04	14C	3,81±0,01	20B	3,72±0,10	15A	3,94±0,02				
7F	3,43±0,04	16A	3,72±0,02	21A	3,93±0,01	16A	3,90±0,01				
12B	3,68±0,03	20A	3,84±0,03	21C	3,85±0,00	20B	3,60±0,02				
13B	3,35±0,01	22A	3,62±0,01	22A	3,67±0,01	21C	3,86±0,00				
16B	3,87±0,04	23B	3,76±0,01	25A	3,64±0,03	23A	3,62±0,02				
16C	3,84±0,00	24A	3,82±0,03	25B	3,77±0,04	24A	3,67±0,04				
18B	3,81±0,04	24C	3,74±0,02	26A	3,82±0,01	24C	3,74±0,04				
20B	3,85±0,06	26A	3,70±0,03	27C	3,72±0,02	25B	3,70±0,04				
22A	3,74±0,01	26C	3,85±0,00	28A	3,80±0,02	26A	3,70±0,01				
22B	3,53±0,01	29B	3,93±0,09	31C	3,51±0,01	30A	3,61±0,00				
22C	3,79±0,00	35B	3,70±0,01	31E	3,73±0,03	31A	3,85±0,08				
23B	3,86±0,02	37C	3,82±0,02	38C	3,84±0,08	31D	3,92±0,03				
27A	3,79±0,04										
27B	3,86±0,06										
27C	3,78±0,03										
28B	3,95±0,08										
29B	3,97±0,07										
31A	3,72±0,01										
36A	3,71±0,01										
37B	3,72±0,01										

EK-8 İzolatların % laktik asit üretimi.

Bakteri no La	% Laktik Asit	Bakteri no Lc	% Laktik Asit	Bakteri no Lj	% Laktik Asit	Bakteri no Lr	% Laktik Asit	Bakteri no St	% Laktik Asit	Bakteri no Lb	% Laktik Asit
3A	0,14±0,01	3A	0,18±0,00	311-2	0,18±0,03	45	0,22±0,00	41	0,31±0,02	26A	0,17±0,00
3D	0,16±0,01	3B	0,15±0,01	63	0,18±0,00	52	0,15±0,01	12B	0,21±0,01	29B	0,14±0,01
4B	0,21±0,05	4A	0,18±0,02	14A	0,22±0,02	53	0,16±0,01	15A	0,32±0,02	31A	0,22±0,05
5A	0,15±0,01	12A	0,16±0,02	15A	0,18±0,02	12A	0,23±0,02	16A	0,13±0,01	31B	0,23±0,02
6A	0,15±0,01	12B	0,21±0,01	15C	0,25±0,03	12B	0,19±0,07	27B	0,17±0,02		
7D	0,16±0,01	14C	0,15±0,01	20B	0,17±0,01	15A	0,22±0,00				
7F	0,16±0,01	16A	0,23±0,02	21A	0,14±0,01	16A	0,24±0,02				
12B	0,21±0,02	20A	0,19±0,01	21C	0,15±0,02	20B	0,16±0,01				
13B	0,16±0,01	22A	0,16±0,02	22A	0,21±0,02	21C	0,14±0,01				
16B	0,19±0,04	23B	0,19±0,02	25A	0,21±0,01	23A	0,16±0,01				
16C	0,19±0,00	24A	0,24±0,00	25B	0,20±0,05	24A	0,14±0,00				
18B	0,22±0,04	24C	0,16±0,01	26A	0,14±0,00	24C	0,26±0,02				
20B	0,17±0,01	26A	0,17±0,01	27C	0,15±0,02	25B	0,15±0,04				
22A	0,26±0,01	26C	0,18±0,04	28A	0,14±0,00	26A	0,15±0,01				
22B	0,28±0,00	29B	0,21±0,01	31C	0,25±0,03	30A	0,23±0,02				
22C	0,21±0,02	35B	0,20±0,01	31E	0,26±0,04	31A	0,25±0,02				
23B	0,14±0,01	37C	0,20±0,02	38C	0,23±0,01	31D	0,26±0,04				
27A	0,15±0,01										
27B	0,25±0,00										
27C	0,19±0,00										
28B	0,14±0,00										
29B	0,20±0,05										
31A	0,24±0,02										
36A	0,24±0,02										
37B	0,21±0,01										

EK-9 İzolatların 120 dakika süresince yapay mide suyu ortamındaki canlılığı ( $\log_{10}$  KOB/ml).

Bakteri no	Başlangıç	30. dakika	60. dakika	90. dakika	120. dakika
La 4B	7,74±0,05 <sup>a</sup>	7,91±0,08 <sup>a</sup>	7,51±0,57 <sup>a</sup>	8,15±0,00 <sup>a</sup>	7,58±0,19 <sup>a</sup>
La7F	-	-	-	-	-
La12B	-	-	-	-	-
La13B	-	-	-	-	-
La16C	8,21±0,02 <sup>a</sup>	7,89±0,27 <sup>ab</sup>	7,50±0,00 <sup>ab</sup>	7,40±0,01 <sup>ab</sup>	6,77±0,68 <sup>b</sup>
La18B	8,32±0,14 <sup>a</sup>	7,37±0,05 <sup>b</sup>	6,52±0,00 <sup>c</sup>	6,45±0,15 <sup>c</sup>	6,15±0,00 <sup>c</sup>
La20B	7,29±0,23 <sup>a</sup>	7,18±0,10 <sup>a</sup>	6,72±0,41 <sup>ab</sup>	5,60±0,38 <sup>b</sup>	5,60±0,28 <sup>b</sup>
La22A	8,03±0,09 <sup>b</sup>	7,59±0,014 <sup>c</sup>	8,73±0,00 <sup>a</sup>	7,16±0,00 <sup>d</sup>	6,83±0,00 <sup>e</sup>
La22B	8,33±0,24 <sup>a</sup>	7,63±0,16 <sup>ab</sup>	7,10±0,24 <sup>b</sup>	7,12±0,30 <sup>b</sup>	6,99±0,12 <sup>b</sup>
La22C	8,42±0,12 <sup>a</sup>	8,21±0,08 <sup>a</sup>	8,31±0,00 <sup>a</sup>	8,27±0,00 <sup>a</sup>	8,20±0,00 <sup>a</sup>
La27A	8,03±0,04 <sup>a</sup>	7,11±0,27 <sup>b</sup>	6,50±0,00 <sup>c</sup>	6,05±0,00 <sup>c</sup>	5,34±0,00 <sup>d</sup>
La27B	6,52±0,00 <sup>b</sup>	7,98±0,13 <sup>a</sup>	8,14±0,00 <sup>a</sup>	8,01±0,00 <sup>a</sup>	7,60±0,33 <sup>a</sup>
La27C	7,39±0,30 <sup>a</sup>	5,55±0,27 <sup>ab</sup>	4,94±0,16 <sup>b</sup>	5,02±0,92 <sup>b</sup>	4,26±0,15 <sup>b</sup>
La29B	8,11±0,41 <sup>a</sup>	7,44±0,01 <sup>ab</sup>	6,87±0,26 <sup>b</sup>	6,72±0,17 <sup>b</sup>	6,78±0,28 <sup>b</sup>
La31A	6,20±0,00 <sup>bc</sup>	7,58±0,06 <sup>a</sup>	6,48±0,00 <sup>b</sup>	6,25±0,00 <sup>bc</sup>	5,86±0,28 <sup>c</sup>
La36A	7,66±0,02 <sup>a</sup>	6,51±0,44 <sup>b</sup>	6,18±0,11 <sup>bc</sup>	5,71±0,00 <sup>bc</sup>	5,48±0,00 <sup>c</sup>
La37B	7,46±0,08 <sup>a</sup>	7,47±0,06 <sup>a</sup>	6,24±0,00 <sup>c</sup>	6,73±0,00 <sup>b</sup>	6,62±0,00 <sup>b</sup>
Lc3A	8,63±0,26 <sup>a</sup>	8,02±0,37 <sup>ab</sup>	7,74±0,00 <sup>b</sup>	7,52±0,00 <sup>b</sup>	7,60±0,00 <sup>b</sup>
Lc 4A	8,52±0,20 <sup>a</sup>	8,03±0,34 <sup>ab</sup>	7,60±0,00 <sup>b</sup>	7,65±0,00 <sup>b</sup>	7,51±0,00 <sup>b</sup>
Lc 12A	5,64±0,08 <sup>a</sup>	4,99±0,23 <sup>b</sup>	4,95±0,03 <sup>b</sup>	5,06±0,16 <sup>b</sup>	4,36±0,09 <sup>c</sup>
Lc 12B	5,85±0,38 <sup>ab</sup>	4,99±0,25 <sup>bc</sup>	4,34±0,04 <sup>c</sup>	4,33±0,01 <sup>c</sup>	6,74±0,30 <sup>a</sup>
Lc 14C	8,26±0,06 <sup>a</sup>	5,68±0,29 <sup>b</sup>	5,13±0,01 <sup>bc</sup>	5,16±0,02 <sup>bc</sup>	4,87±0,07 <sup>c</sup>
Lc20A	7,70±0,40 <sup>a</sup>	7,53±0,19 <sup>ab</sup>	6,89±0,23 <sup>abc</sup>	6,57±0,28 <sup>bc</sup>	6,34±0,22 <sup>c</sup>
Lc22A	8,61±0,24 <sup>a</sup>	7,86±0,23 <sup>ab</sup>	7,69±0,00 <sup>bc</sup>	6,71±0,19 <sup>cd</sup>	6,95±0,29 <sup>d</sup>
Lc23B	8,17±0,13 <sup>a</sup>	7,83±0,29 <sup>ab</sup>	7,98±0,07 <sup>ab</sup>	7,57±0,00 <sup>ab</sup>	7,50±0,00 <sup>b</sup>
Lc24A	5,96±0,05 <sup>a</sup>	5,28±0,13 <sup>a</sup>	4,47±0,14 <sup>b</sup>	4,30±0,14 <sup>b</sup>	4,27±0,30 <sup>b</sup>
Lc24C	7,97±0,30 <sup>a</sup>	7,65±0,26 <sup>ab</sup>	6,76±0,28 <sup>bc</sup>	6,26±0,00 <sup>c</sup>	6,88±0,31 <sup>bc</sup>
Lc26C	8,32±0,14 <sup>a</sup>	7,63±0,20 <sup>ab</sup>	6,75±0,24 <sup>bc</sup>	6,57±0,29 <sup>d</sup>	6,60±0,21 <sup>d</sup>
Lc29B	8,01±0,06 <sup>c</sup>	7,75±0,05 <sup>d</sup>	8,37±0,00 <sup>a</sup>	8,15±0,00 <sup>b</sup>	7,18±0,00 <sup>e</sup>
Lc35B	6,15±0,04 <sup>ab</sup>	6,57±0,19 <sup>a</sup>	5,46±0,20 <sup>ab</sup>	4,95±0,57 <sup>b</sup>	5,32±0,17 <sup>b</sup>
Lc37C	8,36±0,23 <sup>a</sup>	7,30±0,05 <sup>b</sup>	6,37±0,08 <sup>c</sup>	6,23±0,01 <sup>c</sup>	6,34±0,18 <sup>c</sup>
Lj63	7,42±0,25 <sup>a</sup>	7,18±0,00 <sup>a</sup>	6,38±0,20 <sup>b</sup>	5,61±0,04 <sup>c</sup>	5,52±0,15 <sup>c</sup>
Lj14A	8,26±0,05 <sup>a</sup>	6,02±0,00 <sup>c</sup>	6,86±0,06 <sup>b</sup>	6,37±0,17 <sup>c</sup>	6,07±0,09 <sup>c</sup>
Lj15A	7,00±0,00 <sup>b</sup>	7,68±0,00 <sup>a</sup>	6,90±0,00 <sup>c</sup>	6,58±0,00 <sup>e</sup>	6,68±0,00 <sup>d</sup>
Lj15C	8,21±0,16 <sup>a</sup>	7,77±0,29 <sup>ab</sup>	6,65±0,72 <sup>b</sup>	7,08±0,06 <sup>ab</sup>	6,89±0,29 <sup>ab</sup>
Lj21C	8,43±0,07 <sup>a</sup>	8,02±0,29 <sup>a</sup>	7,11±0,11 <sup>a</sup>	5,79±0,04 <sup>a</sup>	7,49±0,00 <sup>a</sup>
Lj22A	7,72±0,03 <sup>a</sup>	7,28±0,17 <sup>a</sup>	6,32±0,07 <sup>bc</sup>	5,90±0,06 <sup>c</sup>	6,51±0,19 <sup>b</sup>
Lj25A	5,99±0,33 <sup>a</sup>	4,74±0,06 <sup>b</sup>	4,28±0,21 <sup>b</sup>	3,96±0,48 <sup>b</sup>	3,67±0,032 <sup>b</sup>
Lj25B	8,44±0,11 <sup>a</sup>	7,74±0,30 <sup>ab</sup>	7,16±0,30 <sup>b</sup>	6,88±0,24 <sup>bc</sup>	6,00±0,00 <sup>c</sup>
Lj27C	8,07±0,21 <sup>a</sup>	6,13±0,07 <sup>ab</sup>	6,09±0,18 <sup>ab</sup>	6,25±1,18 <sup>ab</sup>	5,50±0,25 <sup>b</sup>
Lj31E	7,94±0,09 <sup>a</sup>	7,51±0,06 <sup>ab</sup>	5,78±0,11 <sup>b</sup>	6,00±0,01 <sup>b</sup>	7,21±0,33 <sup>ab</sup>
Lj38C	8,33±0,10 <sup>a</sup>	6,93±0,01 <sup>b</sup>	6,54±0,03 <sup>b</sup>	6,55±0,15 <sup>b</sup>	6,76±0,22 <sup>b</sup>

EK-9 devam. İzolatların 120 dakika süresince yapay mide suyu ortamındaki canlılığı (log<sub>10</sub> KOB/ml).

<b>Bakteri no</b>	<b>Başlangıç</b>	<b>30. dakika</b>	<b>60. dakika</b>	<b>90. dakika</b>	<b>120. dakika</b>
<b>Lj331-2</b>	7,69±0,20 <sup>a</sup>	7,78±0,31 <sup>a</sup>	7,19±0,34 <sup>a</sup>	6,87±0,36 <sup>a</sup>	6,70±0,44 <sup>a</sup>
<b>Lr45</b>	8,04±0,04 <sup>a</sup>	6,57±0,16 <sup>ab</sup>	6,32±0,39 <sup>ab</sup>	6,00±0,96 <sup>ab</sup>	5,52±0,42 <sup>b</sup>
<b>Lr12A</b>	6,57±0,28 <sup>a</sup>	6,39±0,20 <sup>a</sup>	6,16±0,29 <sup>a</sup>	5,63±0,26 <sup>ab</sup>	4,99±0,15 <sup>b</sup>
<b>Lr15A</b>	7,99±0,06 <sup>a</sup>	7,02±0,14 <sup>b</sup>	6,29±0,00 <sup>c</sup>	5,50±0,00 <sup>e</sup>	5,94±0,00 <sup>d</sup>
<b>Lr16A</b>	7,85±0,04 <sup>a</sup>	7,34±0,22 <sup>ab</sup>	6,82±0,26 <sup>bc</sup>	6,69±0,26 <sup>bc</sup>	6,31±0,07 <sup>c</sup>
<b>Lr26A</b>	5,83±0,49 <sup>a</sup>	5,55±0,18 <sup>ab</sup>	4,69±0,07 <sup>b</sup>	4,59±0,12 <sup>b</sup>	4,67±0,04 <sup>b</sup>
<b>Lr31A</b>	6,90±0,13 <sup>a</sup>	7,28±0,12 <sup>a</sup>	6,39±0,08 <sup>b</sup>	6,19±0,09 <sup>b</sup>	6,09±0,02 <sup>b</sup>

\* Satırlardaki farklı harflerle ifade edilen değerler birbirinden farklıdır (p < 0,05)

EK-10 İzolatların % 0,4 fenol toleransı (log<sub>10</sub> KOB/ml).

Bakteri no	Kontrol		% 0,4 Fenol	
	Başlangıç	24.saat	Başlangıç	24.saat
La 4B	6,06±0,19 <sup>b</sup>	6,81±0,16 <sup>a</sup>	6,13±0,09	-
La7F	5,11±0,79 <sup>b</sup>	6,07±0,18 <sup>a</sup>	4,94±0,21	-
La12B	6,27±0,39 <sup>b</sup>	6,98±0,22 <sup>a</sup>	6,06±0,13 <sup>a</sup>	3,40±0,04 <sup>b</sup>
La13B	5,52±0,14 <sup>b</sup>	7,00±0,17 <sup>a</sup>	5,86±0,50 <sup>a</sup>	4,16±0,16 <sup>b</sup>
La16C	6,08±0,14 <sup>b</sup>	6,79±0,26 <sup>a</sup>	6,05±0,11 <sup>a</sup>	3,55±0,38 <sup>b</sup>
La18B	6,40±0,07 <sup>b</sup>	7,59±0,11 <sup>a</sup>	6,47±0,12 <sup>a</sup>	4,53±0,11 <sup>b</sup>
La20B	6,09±0,12 <sup>b</sup>	6,93±0,10 <sup>a</sup>	6,14±0,17	-
La22A	6,37±0,10 <sup>b</sup>	7,30±0,11 <sup>a</sup>	6,43±0,13 <sup>a</sup>	2,96±0,06 <sup>b</sup>
La22B	6,20±0,09 <sup>b</sup>	7,22±0,31 <sup>a</sup>	6,32±0,10	-
La22C	6,44±0,16 <sup>b</sup>	7,49±0,16 <sup>a</sup>	6,56±0,11	-
La27A	6,16±0,05 <sup>b</sup>	7,43±0,18 <sup>a</sup>	6,16±0,13 <sup>a</sup>	5,28±0,27 <sup>b</sup>
La27B	6,31±0,11 <sup>a</sup>	5,80±0,15 <sup>b</sup>	6,39±0,14 <sup>a</sup>	3,69±0,44 <sup>b</sup>
La27C	6,37±0,28 <sup>a</sup>	6,86±0,13 <sup>a</sup>	6,40±0,23 <sup>a</sup>	5,28±0,19 <sup>b</sup>
La29B	5,97±0,07 <sup>b</sup>	6,71±0,69 <sup>a</sup>	6,04±0,11 <sup>a</sup>	2,70±0,00 <sup>b</sup>
La31A	6,37±0,13 <sup>b</sup>	6,95±0,14 <sup>a</sup>	6,45±0,13 <sup>a</sup>	5,27±0,07 <sup>b</sup>
La36A	6,52±0,12 <sup>b</sup>	7,11±0,14 <sup>a</sup>	6,63±0,65 <sup>a</sup>	5,15±0,08 <sup>b</sup>
La37B	6,08±0,16 <sup>b</sup>	7,66±0,22 <sup>a</sup>	6,25±0,12	-
Lc3A	6,22±0,17 <sup>b</sup>	7,12±0,20 <sup>a</sup>	6,29±0,19 <sup>a</sup>	3,00±0,00 <sup>b</sup>
Lc 4A	6,20±0,03 <sup>b</sup>	7,01±0,27 <sup>a</sup>	6,17±0,07	-
Lc 12A	6,17±0,14 <sup>b</sup>	7,02±0,37 <sup>a</sup>	5,91±0,43 <sup>a</sup>	3,09±0,12 <sup>b</sup>
Lc 12B	5,76±0,18 <sup>b</sup>	7,34±0,14 <sup>a</sup>	5,70±0,17	-
Lc 14C	6,56±0,15 <sup>b</sup>	6,92±0,10 <sup>a</sup>	6,56±0,15 <sup>a</sup>	5,52±0,14 <sup>b</sup>
Lc20A	6,26±0,20 <sup>b</sup>	7,65±0,18 <sup>a</sup>	6,27±0,13 <sup>a</sup>	4,00±0,27 <sup>b</sup>
Lc22A	6,16±0,14 <sup>b</sup>	7,53±0,05 <sup>a</sup>	6,31±0,15 <sup>a</sup>	2,88±0,10 <sup>b</sup>
Lc23B	5,45±0,30 <sup>b</sup>	7,15±0,22 <sup>a</sup>	5,79±0,46 <sup>a</sup>	2,70±0,00 <sup>b</sup>
Lc24A	6,14±0,11 <sup>b</sup>	7,47±0,03 <sup>a</sup>	6,20±0,07	-
Lc24C	5,60±0,32 <sup>b</sup>	7,28±0,13 <sup>a</sup>	5,88±0,10	-
Lc26C	5,93±0,02 <sup>b</sup>	6,65±0,67 <sup>a</sup>	6,15±0,11	-
Lc29B	6,16±0,12 <sup>a</sup>	6,52±0,78 <sup>a</sup>	6,39±0,13	-
Lc35B	4,56±0,79 <sup>b</sup>	6,42±0,08 <sup>a</sup>	5,67±0,63	-
Lc37C	6,46±0,14 <sup>b</sup>	7,36±0,27 <sup>a</sup>	6,43±0,13	-
Lj63	4,65±0,17 <sup>b</sup>	7,06±0,27 <sup>a</sup>	5,27±0,24 <sup>a</sup>	2,94±0,07 <sup>b</sup>
Lj14A	5,95±0,16 <sup>b</sup>	7,26±0,06 <sup>a</sup>	5,99±0,17 <sup>a</sup>	3,40±0,00 <sup>b</sup>
Lj15A	6,16±0,16 <sup>b</sup>	7,49±0,13 <sup>a</sup>	6,13±0,10	-
Lj15C	6,52±0,11 <sup>b</sup>	7,66±0,11 <sup>a</sup>	6,57±0,14	-
Lj21C	6,09±0,04 <sup>b</sup>	7,64±0,05 <sup>a</sup>	6,26±0,11	-
Lj22A	6,21±0,15 <sup>b</sup>	7,38±0,08 <sup>a</sup>	6,26±0,16	-
Lj25A	5,38±0,24 <sup>b</sup>	6,13±0,12 <sup>a</sup>	5,30±0,15	-
Lj25B	6,32±0,16 <sup>b</sup>	7,78±0,20 <sup>a</sup>	6,30±0,18	-
Lj27C	6,30±0,14 <sup>a</sup>	6,63±0,08 <sup>a</sup>	6,36±0,22 <sup>a</sup>	5,16±0,13 <sup>b</sup>
Lj31E	6,42±0,26 <sup>b</sup>	7,56±0,60 <sup>a</sup>	6,36±0,10 <sup>a</sup>	6,37±0,13 <sup>a</sup>

EK-10 devam. İzolatların % 0,4 fenol toleransı ( $\log_{10}$  KOB/ml).

Bakteri no	Kontrol		% 0,4 Fenol	
	Başlangıç	24.saat	Başlangıç	24.saat
<b>Lj38C</b>	6,22±0,25 <sup>b</sup>	6,92±0,15 <sup>a</sup>	6,18±0,10 <sup>a</sup>	4,86±0,13 <sup>b</sup>
<b>Lj331-2</b>	5,19±0,04 <sup>b</sup>	6,96±0,24 <sup>a</sup>	5,72±0,31 <sup>a</sup>	4,26±0,25 <sup>b</sup>
<b>Lr45</b>	6,29±0,10 <sup>b</sup>	7,02±0,15 <sup>a</sup>	6,51±0,10 <sup>a</sup>	5,50±0,19 <sup>b</sup>
<b>Lr12A</b>	4,65±0,24 <sup>b</sup>	7,06±0,01 <sup>a</sup>	5,55±1,08	-
<b>Lr15A</b>	6,36±0,06 <sup>b</sup>	7,57±0,04 <sup>a</sup>	6,10±0,06	-
<b>Lr16A</b>	6,60±0,26 <sup>b</sup>	7,43±0,07 <sup>a</sup>	6,71±0,20	-
<b>Lr26A</b>	5,32±0,18 <sup>b</sup>	6,75±0,01 <sup>a</sup>	5,92±0,52	-
<b>Lr31A</b>	6,14±0,29 <sup>a</sup>	6,46±0,77 <sup>a</sup>	6,01±0,09 <sup>b</sup>	6,58±0,08 <sup>a</sup>

\* Kontrol ve % 0,4 fenol grupları içerisindeki satırlarda farklı harflerle ifade edilen değerler birbirinden farklıdır ( $p < 0,05$ )

EK-11 Depolama süresince yoğurtların duyu özelliklerinde meydana gelen değişim \*

Gün	Görünüş		Kıvam		Koku		Tat	
	K	D	K	D	K	D	K	D
1	5,00±0,00 <sup>Aa</sup>	4,83±0,40 <sup>Aa</sup>	4,83±0,40 <sup>Aab</sup>	4,67±0,51 <sup>Aa</sup>	4,67±0,51 <sup>Aa</sup>	4,83±0,40 <sup>Aa</sup>	4,50±0,54 <sup>Aa</sup>	4,83±0,41 <sup>Aa</sup>
7	5,00±0,00 <sup>Aa</sup>	5,00±0,00 <sup>Aa</sup>	4,83±0,41 <sup>Aab</sup>	4,67±0,51 <sup>Aa</sup>	4,17±0,41 <sup>Aab</sup>	4,33±0,52 <sup>Aab</sup>	4,67±0,52 <sup>Aa</sup>	4,33±0,82 <sup>Aa</sup>
14	5,00±0,00 <sup>Aa</sup>	5,00±0,00 <sup>Aa</sup>	5,00±0,00 <sup>Aa</sup>	5,00±0,00 <sup>Aa</sup>	4,00±0,00 <sup>Ab</sup>	3,83±0,41 <sup>Ab</sup>	4,67±0,52 <sup>Aa</sup>	3,83±0,52 <sup>Bb</sup>
21	4,33±0,52 <sup>Ab</sup>	4,67±0,52 <sup>Aa</sup>	4,33±0,52 <sup>Ab</sup>	4,33±0,52 <sup>Aa</sup>	3,17±0,42 <sup>Ac</sup>	3,67±0,52 <sup>Ab</sup>	3,50±0,55 <sup>Ab</sup>	3,33±0,52 <sup>Ab</sup>

\* (Küçük harfler sütun, büyük harfler satır bazında farkı göstermektedir.)

EK-12 Duyusal değerlendirme formu (TS 1330)

	<b>Puan</b>
<b><u>Görünüş</u></b>	
- Temiz, parlak, süt renginde 1), serum ayrılması olmamış, çatlak ve gaz kabarcığı bulunmayan, homojen	5
- Temiz, süt renginde, serum ayrılması olmamış, çatlak ve gaz kabarcığı bulunmayan,	4
- Temiz, mat, az sayıda çatlak ve az miktarda serum ayrılmış,	3
- Süt renginden farklı değişik renk meydana gelmesi, çok sayıda çatlak, gaz kabarcığı bulunan, serumu ayrılmış, gözle görülebilen her türlü yabancı madde bulunan	1-2
<b><u>Kıvam</u></b>	
- Kaşıkla alınan kesitte dolgun kıvamda, düzgün yapıda, homojen, karıştırıldıktan sonra koyu bir akıcılık, serumu hemen ayrılmayan, dille damak arasında kolay dağılmayan	5
- Alınan kesitte dolgun kıvamda, düzgün yapıda, homojen, karıştırıldıktan sonra koyu bir akıcılık, serumu az ayrılan, dille damak arasında en az dağılan, dolgun yapıda homojen	4
- Alınan kesitte akıcılığı az, hafif pütürlü yapıda, karıştırıldıktan sonra akıcı ve serumu hemen ayrılan, ağıza alındığında dağılan, hafif pütürlü	3
- Alınan kesitte çok akıcı, homojen olmayan ve pütürlü, karıştırıldıktan sonra çok akıcı hemen ve fazla miktarda serumu ayrılan, dipte tortu bulunduran, dille damak arasında tutulamayan, akıcı, homojen olmayan	1-2
<b><u>Koku</u></b>	
- Kendine has hoş kokuda	4-5
- Kendine has olmayan veya yabancı koku ihtiva eden	3
- Kendine has olmayan, alkolsü, yanık veya yabancı koku ihtiva eden	1-2
<b><u>Tad</u></b>	
- Kendine has hafif ekşimsi tadda olan	5
- Hafif ekşimsi veya hafif tatlımsı	4
- Ekşimsi, hafif acımsı, hafif küfümsü, hafif sabunumsu ya da hafif yanık tadda olan ve benzeri yabancı tad içeren	3
- Aşırı derecede ekşimsi, acımsı, küfümsü, sabunumsu yanık tadda olan ve benzeri yabancı tad içeren	1-2
1) Homojenize edilmemiş yoğurtlarda süt yağından kaynaklanan açık sarımsı, homojenize yoğurtlarda porselen beyaz renkte.	



## ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Didem AKPINAR  
Doğum Yeri ve Yılı : Isparta, 1988  
Medeni Hali : Bekar  
Yabancı Dili : İngilizce



### Eğitim Durumu

Lise : Mürşide Ermumcu Anadolu Öğretmen Lisesi, 2002-2006  
Lisans : Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda  
Mühendisliği Bölümü, 2006-2010

### Çalıştığı Kurumlar:

Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Meslek Yüksek Okulu Şarap Üretim Teknolojisi  
ve Bağcılık Programı, 2010-2011.

### Yayımları:

- Akpınar, D.**, Başyiğit Kılıç, G. 2012. Farklı Yoğurtlardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi. Süt Endüstrisinde Yenilikçi Yaklaşımlar Sempozyumu, 15-16 Kasım, 2012. Denizli (Poster Sunum).
- Başyiğit Kılıç, G., **Akpınar, D.**, 2012.  $\beta$  Glukan içeren simbiyotik yoğurt üretimi. 17. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi, 23-26 Eylül 2012, İstanbul (Sözlü Sunum).

3. Başıyigit Kılıç, G., **Akpınar, D.**, 2012. Effects of different  $\beta$  glucan concentrations on probiotic yoghurts. 15 th. European Congress on Biotechnology, 23-26 Eylül 2012, İstanbul (Poster Sunum).
4. Başıyigit Kılıç, G., Kuleaşan, H., **Akpınar, D.**, Sudağıdan, M., Sarıgöl, N. 2012. Antibiotic susceptibility profiles, genotypic and phenotypic identification of enterococcal strains isolated from human biopsy samples. 15 th. European Congress on Biotechnology, 23-26 Eylül 2012, İstanbul (Poster Sunum).
5. Gültekin, S., **Akpınar, D.**, Şimşek, A., Kılıç, B. 2012. The effect of transglutaminase and sodium erithorbate on oxidative stability and microbiological and physicochemical properties of wieners. Journal of Food Agriculture and Environment, 10 (3-4), 151-156.
6. **Akpınar, D.**, Başıyigit Kılıç, G. 2012. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen antifungal bileşenler. Gıda, 37 (1): 47-54.
7. Sömer, V.F., **Akpınar, D.**, Başıyigit Kılıç, G. 2012. *Lactobacillus casei*'nin sağlık üzerine etkileri ve gıda endüstrisinde kullanımı. Gıda, GD12013.
8. **Akpınar, D.**, Başıyigit Kılıç, G. 2012. Farklı Yoğurtlardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. 3. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 10-11 Mayıs 2012. Konya (Poster Sunum).
9. Başıyigit Kılıç, G., **Akpınar D.** 2011. An Innovation in food industry for healthy foods:  $\beta$ -glucans. 4th International Congress on Food and Nutrition. 3th Safe Consortium International Congress on Food Safety, 12-14 Ekim 2011. İstanbul (Poster Sunum).
10. Başıyigit Kılıç, G., Kuleaşan, H., **Akpınar, D.**, Çakmak, V.F. 2011. Characterization of Technological Properties of Human Origanated Probiotic *L. plantarum* strains. International Scientific Conference Probiotics and Prebiotics, 14-16 June 2011, Kosice, Slovakia, pp: 14-15 (Sözlü Sunum).
11. Gültekin, S., **Akpınar, D.**, Şimşek, A., Kılıç, B. 2011. The effect of transglutaminase and sodium erithorbate on oxidative stability, microbiological and physicochemical properties of wieners. The International Food Congress "Novel Approaches in Food Industry", 26-29 Mayıs 2011, Çeşme, İzmir (Poster Sunum).