



**CACIK ÜRETİMİNDE PROBİYOTİK BAKTERİ
KULLANIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Seda ALTUNTAŞ



T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CACIK ÜRETİMİNDE PROBİYOTİK BAKTERİ KULLANIM
OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Seda ALTUNTAŞ

Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA 2017

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Seda ALTUNTAŞ tarafından hazırlanan “Cacık Üretiminde Probiyotik Bakteri Kullanım Olanaklarının Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

Başkan : Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

İmza



Üye : Prof. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER

İmza

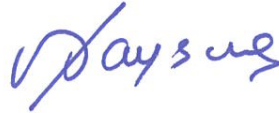


Üye : Yrd. Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım



Prof. Dr. Ali BAYRAM

Enstitü Müdürü

5.../2./2017

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
 - kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
 - ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.**

05/07/2017

Seda ALTUNTAŞ



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

CACIK ÜRETİMİNDE PROBİTOYİK BAKTERİ KULLANIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Seda ALTUNTAŞ

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

Bu çalışmada *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum* bakterilerinin gelişme eğrileri belirlenmiş ve sarımsağın bu bakteriler üzerindeki etkisi disk difüzyon yöntemi ile saptanmıştır. Bu bakteriler ile elde edilen dokuz farklı cacık ürününün fizikokimyasal özellikleri, duyu analizi, raf ömrü boyunca pH gelişimi ve toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, raf ömrünün 0, 10 ve 21. gün yoğurt ve probiyotik bakteri sayımları değerlendirilmiştir.

Çalışmada kullanılan bakteriler arasında 10 µL sarımsak ekstraktına karşı en hassas bakterinin *Bifidobacterium longum*, en dayanıklı bakterinin ise *Lactobacillus acidophilus* olduğu saptanmıştır.

Yapılan çalışmada probiyotik bakterilerin, standart yoğurt ve diğer probiyotik bakterileri arasındaki ilişki ortaya konmuştur. Raf ömrü boyunca tek başına *L. acidophilus* ya da *L. rhamnosus* varlığı, *L. bulgaricus* sayısını değiştirmemiş ancak bu bakteriler birlikte bulunduğu *L. bulgaricus* gelişimi olumlu yönde etkilenmiştir. Çalışmada *L. rhamnosus* varlığının *B. longum* gelişimini stimüle ettiği, *L. acidophilus* ile arasında mutual ilişki olduğu saptanmıştır. Üç probiyotik bakteri içeriğine sahip cacığın duyu değerlendirme sonucunda en yüksek puanı alması ve raf ömrü boyunca arzu edilen sayıda bakteri içermesi sebebiyle, endüstriyel ürün olarak üretilebileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Cacık, probiyotik bakteriler, fonksiyonel gıda, bakteriler arası etkileşim

2017, ix + 87 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

THE RESEARCH ON USAGE POSSIBILITIES OF PROBIOTIC BACTERIA FOR CACIK PRODUCTION

Seda ALTUNTAŞ

Uludağ University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

In this study, the growth curves of *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium longum* bacteria were determined and the effect of garlic on these bacteria was determined by disk diffusion assays. In addition, sensory analysis and physicochemical properties of nine different cacik obtained with these bacteria, pH development and total aerobic mesophilic bacteria counts during shelf life, yoghurt and probiotic bacteria counts of shelf life at 0, 10 and 21 days were evaluated.

Among these bacteria used in the study, it was determined that *Bifidobacterium longum* was the most sensitive bacteria against 10 µL garlic extract, and *Lactobacillus acidophilus* was the most resistant bacteria.

In this study, the interactions of probiotics and yoghurt bacteria was determined. During shelf life, *L. acidophilus* or *L. rhamnosus* alone did not change the number of *L. bulgaricus*, but when these bacteria were found together, the growth of *L. bulgaricus* was positively affected. In the study, it was determined that the presence of *L. rhamnosus* stimulated *B. longum* and mutual relationship with *L. acidophilus*. It has been reported that three probiotic bacterial ingredients can be produced as industrial products due to the highest score in the sensory evaluation and the desired number of bacteria throughout the shelf life.

Key words: Cacik, probiotics, functional food, interaction between bacteria

2017, ix + 87 pages

TEŐEKKÖR

Tezimin tÖm aŐamalarında bÖyÖk yardımlarını ve desteğini gÖrdÖğÖm, değerli bilgilerinden yararlandığım Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOğLU'na, desteğini ve sevgisini her zaman hissettiğim ve hissedeceğim eŐime, bugÖnlere gelmemde emeği olan annem ve babama iŐtenlikle teŐekkÖr ederim.

Seda ALTUNTAŞ

05 /07 /2017



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISATMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Yoğurt ve Benzeri Ürünler, Cacık	3
2.2. Probiyotik Mikroorganizmalar ve Etki Mekanizmaları	10
2.3. Probiyotik Kullanımının İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri	14
2.4. Bakteri Gelişim Eğrilerinin Belirlenmesi.....	18
2.5. Sarımsağın İnhibisyon Etkisi	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1. Materyal	22
3.1.1. Süt	22
3.1.2. UHT süt.....	22
3.1.3. Yoğurt ve probiyotik bakteri kültürleri	22
3.1.4. Hıyar.....	23
3.1.5. Sarımsak.....	23
3.1.6. Nane	23
3.1.7. Zeytinyağı	23
3.1.8. Tuz	23
3.1.9. Besiyeri ve çözeltiler.....	23
3.2. Yöntem.....	25
3.2.1. Mikroorganizma sayım yöntemleri	25
3.2.2. Bakteri gelişim eğrilerinin belirlenmesi.....	26
3.2.3. Disk difüzyon metodu ile sarımsağın probiyotik ve yoğurt bakterileri üzerine etkisinin belirlenmesi	27
3.2.4. Kültürlerin çözündürülmesi	27
3.2.5. Cacık üretimi.....	27
3.2.6. Hammadde analizleri	30
3.2.7. Cacıkta yapılan analizler	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	36
4.1. Çalışmada Kullanılan Bakterilerin Gelişim Eğrileri ve Sarımsağın Bu Bakteriler Üzerindeki Etkisi	36
4.1.1. Bakteri gelişim eğrilerinin belirlenmesi.....	36
4.1.2. Sarımsağın test bakterileri üzerine etkisi	42
4.2. Probiyotik Cacık Üretimi	46
4.2.1. Probiyotik cacığın fizikokimyasal özellikleri	46
4.2.2. Raf ömrü sürecinde pH gelişimi	50
4.2.3. Raf ömrü sürecinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı	53

4.2.4. Starter ve probiyotik bakteri sayımları.....	57
4.2.5. Duyusal değerlendirme sonuçları.....	71
5. SONUÇ	72
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	87



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
±	Artı eksi
β	Beta
>	Büyüktür
°C	Celcius
<	Küçüktür
μ	Spesifik gelişme hızı
%	Yüzde
t ₀	Başlangıç anı
XI	11. yüzyıl

Kisaltmalar	Açıklama
ANOVA	Analysis of Variance (Varyans Analizi)
ATCC	American Type Culture Collection
Da	Dalton
DCs	Dentric Cells (Dentrik hücreler)
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
FAO	Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
GALT	Gut Associated Lymphoid Tissue (Bağırsak ile ilişkili lenfoit doku)
g	Gram
HDL	High Density Lipoprotein (Yüksek yoğunluklu lipoprotein)
Hz	Hazreti
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
IBH	İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
IDF	International Dairy Federation (Uluslararası Süt Federasyonu)
Ig	İmmünoglobulin
IL	İnterlökin
ISO	International Organization for Standardization (Uluslararası Standartlar Organizasyonu)
kob	Koloni Oluşturan Birim
LABIP	Laktik Asit Bakteri Endüstriyel Platformu
ln	Natural Logarithm (Doğal Logaritma)
log	Logaritma
mL	Mililitre
μL	Mikrolitre
μg	Mikrogram

mm	Milimetre
MÖ	Milattan Önce
MPCA	Milk Plate Count Agar
MRS	Man Rogosa Sharpe
NCFB	National Collection of Food Bakteria (Ulusal Gıda Bakterileri Koleksiyonu)
NCFM	North Carolina Food Microbiology (Kuzey Carolina Gıda Mikrobiyolojisi)
p	Significance (Anlamlılık)
pH	Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
sa	Saat
spp	Subspecies (Alt Suş)
SPY	Soy Peptone Yeast
TAMBS	Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı
TL	Türk Lirası
TGF	Transforming Growth Factor (Dönüştürücü Büyüme Faktörü)
t _(g)	Generation Time (Jenerasyon Süresi)
UHT	Ultra High Temperature (Ultra Yüksek Sıcaklık)
ÜSYE	Üst Solunum Yolları Enfeksiyonu
YGC	Yeast Glucose Chloramphenicol
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Spesifik gelişme hızının hesaplanması	19
Şekil 3.1. Cacık üretimi akış şeması	29
Şekil 3.2. Gerber Instruments marka Bostwick	33
Şekil 3.3. Cacık duyuşal analiz formu	35
Şekil 4.1. <i>Streptococcus thermophilus</i> gelişim eğrisi	36
Şekil 4.2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i> gelişim eğrisi	37
Şekil 4.3. <i>Lactobacillus acidophilus</i> gelişim eğrisi	39
Şekil 4.4. <i>Lactobacillus rhamnosus</i> gelişim eğrisi	40
Şekil 4.5. <i>Bifidobacterium longum</i> gelişim eğrisi.....	42
Şekil 4.6. Sarımsağın <i>Lactobacillus bulgaricus</i> ve <i>Streptococcus thermophilus</i> üzerine inhibisyon etkisi	43
Şekil 4.7. Sarımsağın <i>Lactobacillus acidophilus</i> 74-2, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001 TM ve <i>Bifidobacterium longum</i> BB536 üzerine inhibisyon etkisi.....	44
Şekil 4.8. İnkübasyon süresince pH izlemesi (N1,N2,N3,N4,N5).....	47
Şekil 4.9. İnkübasyon süresince pH izlemesi (N2,N6,N7,N8,N9).....	48
Şekil 4.10. Raf ömrü sürecinde pH izlemesi (N1,N2,N3,N4,N5).....	51
Şekil 4.11. Raf ömrü sürecinde pH izlemesi (N2,N6,N7,N8,N9).....	53
Şekil 4.12. Raf ömrü sürecinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı (N1,N2,N3,N4,N5).....	55
Şekil 4.13. Raf ömrü sürecinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı (N2,N6,N7,N8,N9).....	56
Şekil 4.14. Raf ömrü sürecinde <i>Streptococcus thermophilus</i> sayımı.....	58
Şekil 4.15. Raf ömrü sürecinde <i>Lactobacillus bulgaricus</i> sayımı	61
Şekil 4.16. Raf ömrü sürecinde <i>Lactobacillus acidophilus</i> sayımı.....	64
Şekil 4.17. Raf ömrü sürecinde <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sayımı	67
Şekil 4.18. Raf ömrü sürecinde <i>Bifidobacterium longum</i> sayımı	69

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Probiyotik mikroorganizmalar için belirlenen kriterler	12
Çizelge 3.1. Pastörize edilmiş sütün ortalama kimyasal değerleri.....	22
Çizelge 3.2. UHT sütün ortalama kimyasal değerleri	22
Çizelge 3.3. Naneye ait kimyasal ve mikrobiyolojik analizler	23
Çizelge 3.4. MRS-IM agar içeriği.....	24
Çizelge 3.5. Yoğurt ve probiyotik bakteri sayımı için agar ve inkübasyon koşulları.....	26
Çizelge 3.6. Elde edilen ürünler	28
Çizelge 4.1. Sarımsağın test bakterileri üzerine etkisi	43
Çizelge 4.2. Kontrol ve probiyotik cacıkların inkübasyon süreleri, fiziksel ve kimyasal sonuçları	46
Çizelge 4.3. Kontrol ve probiyotik cacıkların 1, 10 ve 21. gün pH sonuçları.....	50
Çizelge 4.4. Kontrol ve probiyotik cacıkların 1, 10 ve 21. gün toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı sonuçları (log kob/g).....	54
Çizelge 4.5. Raf ömrü sürecinde <i>Streptococcus thermophilus</i> sayımı (log kob/g).....	59
Çizelge 4.6. Raf ömrü sürecinde <i>Lactobacillus bulgaricus</i> sayımı (log kob/g)	62
Çizelge 4.7. Raf ömrü sürecinde <i>Lactobacillus acidophilus</i> sayımı (log kob/g).....	66
Çizelge 4.8. Raf ömrü sürecinde <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sayımı (log kob/g)	68
Çizelge 4.9. Raf ömrü sürecinde <i>Bifidobacterium longum</i> sayımı (log kob/g)	70
Çizelge 4.10. Duyusal analiz sonuçları	71

1. GİRİŞ

Nutrasetikal, tıbbi, terapötik, fitokimyasal ve süper gıda olarak da adlandırılan fonksiyonel gıdalar, vücudun temel besin öğelerini karşılayanın ötesinde insan fizyolojisi ve metabolik fonksiyonları üzerinde ilave faydalar sağlayan besin ve bileşenleri olarak tanımlanmaktadır. Probiyotik mikroorganizmalar, yeterli miktarda alındığında konakçının bağırsaklarında mikrobiyel dengeyi düzenleyerek sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan canlı mikroorganizmalardır (FAO/WHO 2001, Usta ve Urgancı 2014). Bu tanım nedeniyle probiyotik mikroorganizma içeren gıdalar fonksiyonel gıda grubunun altında değerlendirilmektedir.

Yüzyıllardır insanların beslenmesinde yerleri olmasına karşın son yıllarda probiyotik gıdaların insan sağlığı ve hastalıklarının tedavisi ile ilgili araştırmaların sayısı artmaktadır (İnanç ve ark. 2005, Huq ve ark. 2013, Scholz-Ahrens 2016, Marco ve ark. 2017).

Probiyotik mikroorganizmalar antimikrobiyel bileşikler üretilip, besin elementleri ve kolonizasyon bölgeleri için rekabet ederek patojen mikroorganizmaların sayılarını azaltmaktadırlar. Ayrıca bağırsak duvarının fonksiyonlarını iyileştirdiği, antikor düzeyinde artış sağlayarak bağışıklık sistemini güçlendirdiği bilinmektedir. Bu etki mekanizmaları sayesinde bağırsak sistemine ilişkin rahatsız bağırsak sendromu (irritable bağırsak sendromu), konstipasyon, kronik enflamatuvar bağırsak hastalığı üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Kolon kanseri, gıda alerjileri, diş eti hastalıkları ve diş çürüklerinin önlenmesinde, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu tedavisinde, kolesterol problemi yaşayan ve laktöz intoleransına sahip bireylerde probiyotik mikroorganizma içeriğine sahip gıda ya da takviye edici gıda kullanımı önerilmektedir (Sağdıç ve ark. 2004, Andresen ve Baumgart 2006, Akbarzadeh ve Homayouni 2012, Usta ve Urgancı 2014, Bevilacqua ve ark. 2016).

Probiyotik gıdalarda suş seçimi kritik bir süreçtir (Sonnenborn ve ark. 2009). Probiyotik bir mikroorganizmanın tanımı için zorunlu kriterler “Laktik Asit Bakteri Endüstriyel Platformu (LABIP)” tarafından belirlenmiştir (Guarner ve Schaafsma 1998, Ewaschuk

ve Dieleman 2006). Bu kriterlere göre kullanılacak suşun kesin olarak tanımlanmış olması, insan orjinli olması, patojenik ve toksik etkiler göstermemesi, bağırsak epitelyum dokusuna tutunması, raf ömrü boyunca istenilen sayıda gıda içerisinde kalabilmesi gerekmektedir (Guarner ve ark. 2011, Kara ve Parlakay 2011, Ceyhan ve Alıç 2012). Probiyotik ürünün, hedeflenen yararlı etkiyi gösterebilmesi için bağırsak florasında minimum bakteri sayısı 10^6 kob/mL-g ve minimum terapötik doz 10^8 - 10^9 hücre olarak önerilmektedir (Ali ve ark. 2013, Michael ve ark 2015).

Leatherhead Food Research (2011), 2010 yılında fonksiyonel gıdalara ait küresel satışın 24 milyar dolara ulaştığını belirtmiştir. Türkiye'nin bu pazardan aldığı payın ise yaklaşık 500 milyon dolar olduğu tahmin edilmektedir. Fonksiyonel gıda pazarının en büyük kısmını %56 oranıyla probiyotik ürünler oluşturmakta ve dünyada 379 çeşit ürün bulunmaktadır (Taş 2008, Sevilmiş 2013, <http://www.nutritionaloutlook.com> 2016).

Türkiye'de 2006 yılında üniversite öğrencilerinin probiyotik ürünleri tüketim durumlarını saptamak amacıyla yapılan çalışmada 240 öğrencinin %64,2'sinin probiyotik ürün tüketmediği tespit edilmiş, bu öğrencilerin %43,5'nin probiyotik ürünleri bilmediği belirtilmiştir (Yabancı ve Şimşek 2007). Yapılan çalışma probiyotik ürün çeşitliliğinin artırılması ve bilincin oluşturulması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Cacık, sulandırılmış yoğurt içine küçük doğranmış hıyar, ezilmiş sarımsak, nane ve tuz eklenip son olarak da üzerine bir miktar sıvı yağ eklenerek yapılan geleneksel bir üründür. Bu çalışma ile cacığın içine probiyotik mikroorganizma ilave ederek (*L. acidophilus*, *B. longum*, *L. rhamnosus*) fonksiyonel ürün özelliği kazandırmak amaçlanmıştır. Probiyotik cacık üretimi öncesinde, kullanılacak yoğurt ve probiyotik bakterilerin gelişme eğrileri belirlenmiş ve sarımsağın bu bakteriler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Üretimi yapılan probiyotik cacıklar, klasik yoğurt kültürü kullanılarak yapılan kontrol grubu ile karşılaştırılarak fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri bakımından incelenmiş, istatistiksel yöntemlerle değerlendirilmiştir. Türk kültüründe özellikle yaz aylarında sevilerek tüketilen cacığın probiyotik bakteri ilavesi ile sağlık etkileri artırılmış, tüketiciye ve süt endüstrisine alternatif probiyotik gıda üretilmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Yoğurt ve Benzeri Ürünler, Cacık

Fermentasyon yüzyıllardır kullanılan ve gıdanın korunmasını mümkün hale getiren geleneksel bir yöntemdir (Chojnacka 2009). Tarihte ilk fermentasyon ürünlerinin bira (Babil), şarap (Kafkasya ve Mezopotamya), soya sosu (Japonya ve Çin), fermente süt içecekleri (Balkanlar ve Orta Asya) olduğu birçok yayında belirtilmiştir (Shah 1966, Kâhya 2003, Karaçıl ve Acartek 2013, Yurdakök 2013). Eski çağlardan kalan çömlek parçalarında radyoaktif karbon yöntemi ile yağ kalıntılarının incelenmesiyle, çömleklere süt konulup peynir yapıldığı tespit edilmiştir (Dunne ve ark. 2012). Anadolu uygarlığının kurucularından olan Hititler döneminden (MÖ 2000-1190) kalan yazıtlarda süt, peynir, ekşimiş süttten (yoğurt) bahsedilmektedir (Evershed ve ark. 2008).

Eski İbranilerin yaşamları konusunda önemli bir bilgi kaynağı olan Tevrat'ta MÖ 2000'li yıllarda yaşadığı sanılan Hz. İbrahim'in misafirlerine yoğurt veya ayran ikram ettiği anlatılmaktadır (Yurdakök 2013). Batı edebiyatının ilk büyük eserleri olarak bilinen Homeros'un yazdığı "İlyada" ve "Odysseia" destanlarında, Hipokratın öğretilerinin toplandığı yazılarda, İslam dünyasının bilimsel açıdan en parlak dönemi kabul edilen XI. Yüzyılda İbni Sina'nın yazdığı "*el-Kânûn fi't-Tıbb*" isimli eserinde peynir ve yoğurt yapımından ve bunların sağlık üzerine etkilerinden bahsedilmektedir. (Shah 1966, Kâhya 2003).

Günümüzde, fermentasyon teknolojisi kullanılarak gıdanın raf ömrünün uzatılması hedeflenmiş bunun yanısıra; gıdaya özgü yapı, tat, aroma kazandırarak ürün çeşitliliğinin arttırılması amaçlanmıştır.

Son yıllarda geleneksel fermente ürünlerin yanında çok çeşitli hammadde, üretim teknikleri ve mikroorganizma kullanılarak üretilen fermente gıdalara karşı artmakta olan bir ilgi vardır. Dünya genelinde meyve-sebze ve süt bazlı olmak üzere 3 500'den fazla fermente gıda üretildiği tahmin edilmektedir. Bu ürünlerin çoğu Asya ve Afrika ülkelerinde evlerde ya da küçük ölçekli sanayi kuruluşlarında üretilmektedir (Chojnacka 2009, Karaçıl ve Acartek 2013, Wim 2014).

İnsan beslenmesinde fermente süt ürünlerinin rolü medeniyetin başlangıcından beri bilinmektedir. Başlıca fermente süt ürünleri yoğurt, meyveli yoğurt, kefir, ayran, cacık, süzme yoğurt, peynir olarak sıralanabilir.

Yoğurt, *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterilerinin belli sıcaklıkta faaliyeti sonucu elde edilen, sindirilebilirliği yüksek, besin içeriği zengin, çok eski yıllardan beri insan beslenmesinde önemli yeri olan fermente bir süt ürünüdür (Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt rnleri Tebliği 2009/25, Koçak 2013).

Yoğurdun Orta Asya Türkleri tarafından üretildiği birçok kaynakta belirtilmiştir. Kaşgarlı Mahmut'un Türkçe'nin de en az Arapça kadar zengin olduğunu göstermek için oluşturduğu "Divan Lgati't Türk" adlı eserinde ve Balasgunlu Yusuf Has Hacip'in Türk tarihinde ilk edebi eser olarak bilinen "Kutadgu Bilig" siyasetnamesinde yoğurt, kımız ve kefir bugünkü anlamında kullanılmaktadır (zden 2008, zen 2011).

Yoğurdun Orta Asya'da Türklerin medeniyet kurduğu bölgeden Avrupa'ya yayılmasının Fransızlar aracılığı ile olduğu belirtilmektedir (Akın 1996). On altıncı yüzyılda Fransa Kralı 1. François'in ateşli bir bağırsak hastalığına yakalandığı, birçok tedavi uygulanmasına rağmen iyileşmediği kayıtlarda yer almaktadır. Kralın annesi, Kanuni Sultan Süleyman'dan oğlunun tedavisi için bir hekim göndermesini rica eder. Sultan Süleyman da Fransa kralının hastalığı konusunda bilgisi olan Yahudi bir hekimi Paris'e gönderir. Bazıları bu hekimin keçilerini de yanına alarak Fransa'ya gittiğini yazmaktadır. Yahudi Osmanlı hekimi kendi sağdığı sütten yoğurt yaparak işe başlar. Osmanlı hekimin tedavisi ile iyileşen 1. François daha sonra yoğurda "ebedi hayatın sütü" ismini verir (Shah 2006, zen 2011). Böylelikle yoğurt, Türk kültüründe kullanılan ismiyle Avrupa'da tüketilmektedir.

Yoğurt, sütün daha konsantre hale getirilmesi ve laktik asit bakterileri tarafından süt bileşenlerinin insan beslenmesinde yararlı olan metabolik ürünlere dönüştürülmesi nedeniyle insan beslenmesi için gerekli tüm bileşenleri içermektedir. Protein, kalsiyum, fosfor, B1 (tiamin), B2 (riboflavin) ve B12 vitaminleri içeriği bakımından oldukça zengin bir üründür. Ayrıca yoğurt, süte oranla daha fazla folik asit, niasin, magnezyum

ve çinko içermektedir. Yoğurt proteinlerinin biyolojik değeri yüksektir ve esansiyel aminoasitler yönünden de zengindir. Süt yağının sindirilebilirliği yoğurtta oldukça yüksek olup %99 oranlarına ulaştığı için bu ürünün değeri artmaktadır (Canbulat 2010, Weerathilake ve ark. 2014).

Süt şekeri olarak da bilinen laktozun hidrolize olup, β -galaktosidaz enzim aktivitesinin artması da laktoz intoleransı görülen kişilerin yoğurt ve diğer fermente süt ürünlerini rahatlıkla tüketmelerini sağlamaktadır (Yılmaz 2006, Mazahreh ve Ershidat 2009).

Yapılan birçok çalışma; yoğurt tüketiminin insan sağlığı üzerinde kanser, enfeksiyon, mide, bağırsak rahatsızlıkları ve astım gibi hastalıklarda terapötik ve koruyucu etkileri olduğunu göstermektedir (Reeta ve ark. 2015). Hindistan'da yürütülen, yaşları 17 ile 20 arasında değişen 68 öğrencinin katıldığı çalışmada, yoğurt ve benzeri fermente süt ürünlerinin içerdikleri kalsiyum ve fosfor seviyesiyle diş çürüklerini önlediği tespit edilmiştir (Ravishankar ve ark. 2012).

Yoğurt tüketiminin diyet kalitesine etkisini inceleyen bir araştırmada, 6 526 kadın ve erkek bir yıl boyunca belirlenen zamanlarda kan şekeri, toplam kolesterol, HDL kolesterol, trigliserid ve insülin seviyelerini gösteren sağlık kontrolüne tabi tutulmuştur. Sonuçlar, yoğurt tüketiminin kan şekeri seviyesi, insülin direnci ve kan basıncı ile ters olarak ilişkili olduğunu göstermiştir. Sıklıkla yoğurt tüketen bireylerde, yüksek potasyum alımı, vücuttaki mineral-vitamin dengesinin iyi olduğu ve trigliserid, hızlı insülin seviyesi gibi biyolojik parametrelerin ise düşük olduğu ifade edilmiştir (Wang ve ark. 2013).

Yaşları 35-64 arasında değişen bireylerin katıldığı, yeme alışkanlığının kalp ve damar sağlığı üzerine etkilerini gösteren bir çalışmada ise, günlük yaklaşık 380 g yoğurt tüketiminin kalp ve damar sağlığı riskini %32 oranında azalttığı belirtilmiştir (Kai ve ark. 2014).

Beden kitle indeksi 25-29,9 olan sağlıklı ancak aşırı kilolu 40 erkeğin katıldığı bir deneyde, 4 grup oluşturulmuştur. Bu çalışmada yoğurt ve diğer süt ürünleri tüketiminin

açlık hissine etkisi araştırılmıştır. Her grup, süt ürünleri (yarım yağlı süt, yoğurt ya da Cheddar peyniri) ve su tüketiminden oluşmaktadır. Testten 24 saat öncesi için sınırlı miktarda alkol tüketimi ve standart bir akşam yemeği önerilmektedir. Testin yapılacağı sabah bireyler aynı araştırma merkezinde kahvaltı edip 2 saat sonra her test grubu için belirlenen ürünler tüketilmektedir. Kahvaltıdan 3,5 saat sonra alınan öğle yemeğinde bireyler istedikleri her şeyi yiyebilmektedir. Bireylerden alınan 2 tüp kan örneği ile amino asit konsantrasyonu, kan şekeri, insulin ve tirozin peptidi ölçümleri yapıldığı bildirilmektedir. Araştırma sonuçlarına göre, yoğurt tüketen grubun peynire göre %8, süte göre %10 ve suya göre ise %24 daha az açlık hissettikleri tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak öğle yemeğinde enerji alımında da azalma olduğu belirlenmiştir (Dougkas ve ark. 2012).

Aune ve ark.'nın (2013) yaptığı çalışmada 200 g'dan daha az yoğurt tüketiminin tip 2 diyabet riskini % 22 azalttığı, ancak daha fazla yoğurt tüketiminin daha fazla yarar sağlamadığı belirtilmiştir.

Başka bir çalışmada, Amerika'da bir insanın haftada 4 porsiyon yoğurt tükettiği, Fransa'da ise bu miktarın günlük tüketime eşdeğer olduğu belirtilmiştir. Son zamanlarda Amerika'daki kadınlarda görülen kemik erimesinde ciddi artış olduğu ve bunun düşük miktarda yoğurt tüketimiyle ilişkilendirildiği ifade edilmektedir (Sahni ve ark. 2013).

Yoğurt ve benzeri fermente süt ürünlerinin insan beslenmesi ve sağlığı üzerine pek çok faydası olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu nedenle yoğurt ve benzeri fermente süt ürünlerinin çeşitliliği ile tüketiminin artırılmasını sağlayacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Artan teknoloji ile yoğurt üretim metotları geliştirilmiş olup, farklı tipte yoğurtlar üretilebilir hale gelmiştir. Böylelikle daha uzun ömürlü, daha çok tercih edilen, her tüketicinin damak zevkine uygun yoğurt üretimleri dünyada hız kazanmıştır (Çayır 2007, Canbulat 2010, Weerathilake ve ark. 2014).

Farklı üretim tekniklerinin yanı sıra; sade, meyveli ve aromalı çeşitte yoğurt üretimleri de yaygındır. Sade yoğurt tüketimi özellikle Türk kültüründe ana yemek yanında sıklıkla tüketilmektedir. Ayrıca çorba yapımında ana madde olarak kullanılmaktadır (Yıldırım ve ark. 2014).

Sütün kendine has aromasından ve çeşitli dış etkenlerle değişmiş tadından hoşlanmayanların, yoğurdu doğal tat ve aromasının dışında, değişik şekillerde tüketmek isteyen insanların isteklerini karşılamak amacıyla meyveli yoğurt üretimi giderek artmıştır (Kavaz 2006, Weerathilake ve ark. 2014).

Ülkemizde yoğurdun en önemli tüketim şekillerinden biri ise ayrandır. Özellikle yaz aylarında yoğurdun büyük bir kısmının ayran şekline dönüştürülerek tüketime sunulduğu bir gerçektir. Bilindiği gibi ayran, yoğurt içerisine belirli oranlarda su ve tuz katılarak elde edilen hoş lezzet ve kıvamda olan bir içecektir ve yalnız ülkemize özgüdür (Kuş 2010).

Süzme yoğurt; kurumadde oranı yüksek, yumuşak yapılı, kolay sürülebilme yeteneğine sahip ve kullanılan süt türüne göre beyazdan sarıya değişen renge sahip fermente bir süt ürünüdür. Geleneksel bir ürün olan süzme yoğurt günümüzde sadece evlerde üretilen bir ürün olmaktan çıkıp modern teknolojiyle birlikte hijyenik bir ürüne de dönüştürülmüştür (Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği 2009/25, Baladura 2011).

Cacık, sulandırılmış ya da endüstriyel olarak üretilmiş stirred tip yoğurt içine küçük doğranmış hıyar, ezilmiş sarımsak, nane ve tuz eklenip son olarak da üzerine bir miktar sıvı yağ eklenerek yapılan, özellikle yaz aylarında tüketimi artan geleneksel bir üründür (Küçüköner ve ark. 2006).

Cacığın kökenine bakıldığında ilk olarak Anadolu toplumlarında tüketildiği görülmektedir. 17. yüzyılda yazılan Evliya Çelebi'nin Seyahatnamesi'nde yemeğe katılan bir ot olarak "cacık"tan, Ahmet Vefik Paşa'nın 1876 yılında yazdığı Lügat-ı

Osmanlı'sında ise cacıktan “yoğurtla yapılan ot salatası” şeklinde bahsedilmektedir (Anonim 2014).

Türk kültüründe çoğunlukla ana yemek yanında sunulan cacık, yakın coğrafyada bulunan kültürlerin kaynaşmasıyla farklı lezzetlere kavuşmuştur. Kıbrıs'ta “talatur” olarak bilinen genellikle koyun yoğurdu ile yapılan bol zeytinyağıyla karıştırılıp içine hıyar ilave edilen bir mezedir. Yine benzer şekilde Yunanistan'da “tzatziki”, Irakta “jajeek”, Balkan ülkelerinde “tarator” adıyla sunulan cacık benzeri ürünler meze olarak sunulmaktadır. “Tzatziki”, stirred tip yoğurtun hıyar, zeytinyağı, tuz, limon suyu, nane, maydanoz ve dereotu karışımından elde edilen bir mezedir (Tsiraki ve Savvaıdis 2014).

Ülkemizde cacık üzerine yapılan araştırmalar oldukça sınırlı olmakla birlikte Küçüköner ve ark.'nın (2006) yaptığı çalışmada, 7 adet aile işletmesinden ve 3 adet süt ürünleri üreten firmadan temin edilen 10 adet cacık örneğinde fiziko-kimyasal özellikler, mineral ve ağır metal içeriği, mikrobiyel flora raf ömrü boyunca belli periyotlarda değerlendirilmiştir. Çalışmada değerlendirilen örneklerin kurumadde içeriğinin %16,45-20,76 arasında; protein içeriğinin %8,14-13,87 arasında; yağ içeriğinin ise %1,45-4,30 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerin tuz içeriği %0,25-3,15 arasında değişmektedir. Alınan örneklerin toplam aerobik mezofilik bakteri sayımları 2,63-4,82 log kob/g; psikotrof bakteri sayısı <1-3,20 log kob/g; lipolitik ve proteolitik bakteri sayısı sırasıyla <1-3,30 log kob/g; <1-3,40 log kob/g arasında bulunmuştur. Ürünün 1, 10, 20 ve 30. günlerinde *Lactobacillus bulgaricus* sayısının 2,50 ile 4,26 log kob/g; *Streptococcus thermophilus* sayısının 2,14 ile 4,40 log kob/g arasında olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresince *L. bulgaricus* sayısının arttığı, *S. thermophilus*'un ise azaldığı belirtilmiştir.

Son dönemde yaygın olarak karşılaşılan ve Van kahvaltı salonlarında tüketime sunulan cacıkların mikrobiyolojik kalitesi üzerine yapılan bir çalışmada, 50 adet cacık örneğinin aerobik mezofilik bakteri, koliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, maya-küf ve *Listeria monocytogenes* varlığı araştırılmıştır. Alınan cacık örneklerinin ortalama pH değeri 4,05 olarak saptanmıştır. Mikrobiyolojik sonuçlarda ise toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısının 6,30-8,40 log kob/g arasında ve ortalama 7,44±0,45 log

kob/g; koliform sayısının $<1-3,75$ log kob/g arasında ve ortalama $2,05\pm 1,21$ log kob/g; *E. coli* sayısının $<2-2,85$ log kob/g arasında ve ortalama $0,14\pm 0,58$ log kob/g; *S. aureus* sayısının $<2-4,80$ log kob/g arasında ve ortalama $1,35\pm 1,67$ log kob/g; maya-küf sayısının $6,78-8,38$ log kob/g arasında ve ortalama $7,37\pm 0,35$ log kob/g olarak belirlendiği ve *L. monocytogenes*'in (var-yok analizinde) ise 4 adet cacık örneğinde pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, bazı Van kahvaltılı salonlarında tüketime sunulan cacıklardan analize alınan örneklerde mikrobiyolojik kalitenin yetersiz olduğu ve halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturabileceği kanısına varılmıştır (Güneş ve Sancak 2014).

Dünya'da geleneksel ürünlere duyulan ilgi son yıllarda giderek artmaktadır. Bu artış, özellikle iki konuda yoğunluk kazanmıştır. Bunlardan birincisi ürünlerin geleneksel yöntemle üretilmesi, ikincisi ise ait oldukları coğrafyada imal edilmesidir. Diğer bir deyişle orijine uygunluk (Protected Designation of Origin, PDO) ve coğrafik işaretlere uygunluk (Protected Geographical Indication, PGI) dikkate alınmaktadır. Bu durum Avrupa Birliği'ne üye ve aday ülkelerde giderek önem kazanmakta ve geleneksel ürünlerin korunmasına dikkat edilmektedir (Öztürk 2010).

Günümüzde tüketiciler beslenmenin yanı sıra; sağlıklı, güvenilir ve dengeli beslenme kavramına uygun gıdaları tercih etmektedirler. Fonksiyonel gıdalar, en basit şekilde temel beslenmenin yanında sağlığa yarar sağlayabilen gıdalar olarak tanımlanmaktadır (Gürsoy 2005, International Food Information Council Foundation 2011, Martirosyan ve Singh 2015).

Fonksiyonel gıdalar içerisinde süt ürünleri büyük bir öneme sahiptir. Sağlık üzerine olumlu etkilerinin araştırma bulguları ile desteklenmesi nedeniyle fonksiyonel süt ürünleri günümüzde tüketicilerin ilgi odağı haline gelmiştir. Bu nedenle süt sanayinde bu ürünlerin üretimi önemli ölçüde hız kazanmıştır. Prebiyotik ve probiyotik, enerjisi azaltılmış ve zenginleştirilmiş süt ürünleri fonksiyonel süt ürünlerine örnek gösterilebilmektedir. Son yıllarda probiyotik bakteri içeren birçok gıda ve özellikle süt ürünleri geliştirilerek marketlerdeki yerini almıştır (Kuş 2010).

2.2. Probiyotik Mikroorganizmalar ve Etki Mekanizmaları

Günümüzde probiyotik mikroorganizmalar, vücuda yeterli miktarda alındıklarında, konakçının sağlığı üzerine olumlu etkiler sunan, patojen olmayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (FAO 2001).

Probiyotik kelimesi Yunanca'da "yaşam için" anlamına gelmektedir. İlk olarak 1954 yılında Ferdinand Vergin tarafından "Probiotika" terimi kullanılmıştır. Alman asıllı Werner Kollath II. Dünya Savaşı'ndan kısa bir süre, Lilly ve Stillwell 1965 yılında, Parker 1974 yılında ve Fuller 1989 yılında günümüzdeki probiyotik tanımına katkıda bulunmuşlardır (Parker 1974, Fuller 1989, Sonnenborn ve Schulze 2009, Yaşar ve Kurdaş 2009). Probiyotik teriminin tanımı, Avrupa Komitesince desteklenen ve LABIP (Laktik Asit Bakteri Endüstriyel Platformu) tarafından düzenlenen çalıştayda, "Oral probiyotik mikroorganizmalar, ağız yoluyla belirli sayıda alındıklarında özgün temel beslenmenin ötesinde sağlık etkileri olan canlı mikroorganizmalardır" şeklinde yayınlanmıştır. 2001 yılında kabul gören probiyotik tanımında ise FAO (Gıda ve Tarım Örgütü) / WHO (Dünya Sağlık Örgütü) komite uzmanları, "Sadece ağız yoluyla alımı" kısmını tanımlamadan çıkartmış ve "Probiyotik mikroorganizmalar yeterli miktarda alındıklarında, konakçının sağlığı üzerine olumlu etkiler sunan, patojen olmayan canlı mikroorganizmalardır" olarak tanımlamışlardır (Sonnenborn ve Schulze 2009).

Probiyotik içeren ürünlerin insan sağlığına faydalı olduğu düşüncesinin fikir babası olarak her zaman Ellie Metchnikov'dan bahsedilmektedir (Anukam ve Gregor 2007, Schmalstieg ve Goldman 2008). Metchnikov, fermente süt ürünlerinin sıklıkla tüketildiğinde zararsız laktik asit bakterilerinin bağırsakta kolonize olarak ve kolonda fermentasyon işlevini gerçekleştirip pH'yı düşüreceğini ve böylelikle proteolitik bakterilerin çoğalmasının inhibe edileceğini ileri sürmektedir (Sergar 2010, Özen 2011). 1900'lü yılların başında atılan bu iddia ile probiyotik mikroorganizmalara olan ilgi artmış ve etki mekanizmaları, sağlık üzerine etkileri, yeni suşların belirlenmesi üzerine çalışmalar hız kazanmıştır.

Herhangi bir mikroorganizmanın probiyotik olarak adlandırılabilmesi için bazı kriterler belirlenmiştir. Bu kriterler temel olarak 3 grup altında incelenebilir (Çizelge 2.1)

(Saarela ve ark. 2000, Dash 2009, Guarner ve ark. 2011, Kara ve Parlakay 2011, Ceyhan ve Alıç 2012).

Probiyotik mikroorganizmaların birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir ancak bu etkilerden sorumlu mekanizmaların bir kısmı henüz tam olarak ortaya konmamıştır (Brito ve ark. 2012, Arauz 2014). Bu nedenle *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar günümüzde hala devam etmektedir.

Probiyotik mikroorganizmaların keşfedilen etki mekanizmaları; bağırsak bariyer özelliğini güçlendirme, intestinal mukozaya tutunmayı artırma, patojen mikroorganizmaların epitelyum yüzeye tutunmasını engelleme ve patojenlerle rekabet, antimikrobiyel bileşiklerin üretimi, bağışıklık sistemini düzenleme olarak sıralanabilir.

Bağırsak bariyeri, epitel bütünlüğünü ve organizmayı dış etkenlerden koruyan en önemli savunma mekanizmasıdır. Bariyer zarar gördüğünde, bakteri ve gıda antijenleri alt tabakaya ulaşır ve enflamatuar bağırsak sendromu gibi intestinal bozukluklar meydana gelebilir (Ohland ve MacNaughton 2010, Brito ve ark. 2012). Probiyotik mikroorganizmalar bağırsak hücrelerinin programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) azaltarak ve musin üretimini arttırarak bağırsak epitelyumunu güçlendirirler. *In vitro* yapılan çalışmalar, *Lactobacillus* türlerinin musin üretimi sayesinde patojenik *Escherichia coli* istilasını önlediği ve epitelyum hücrelerini bloke ederek tutunmalarını engellediğini göstermektedir (Gogineni ve ark. 2013).

İntestinal mukozaya tutunma, kolonizasyon ve bağırsakta bulunan diğer mikroorganizmalar ile etkileşim için ön gereksinimdir (Kos ve ark. 2003, Salminen ve ark. 2010). Mukozal yüzeye yapışma bakteri yüzeyinde bulunan adezinler ile konağın reseptörleri arasındaki etkileşimler sonucu gerçekleşir (Otero ve ark. 2007). Mukoza tabakasının ana bileşeni kompleks bir glikoprotein olan musin, mikroorganizmaların epitelyum yüzeyine yapışmasını önler. Probiyotik mikroorganizmaların musin yapısındaki karbonhidrat reseptörlerini degrade ederek tutunmayı sağladığı, böylece yüzeyde biyofilm tabakası oluşturduğu düşünülmektedir (Howarth ve Wang 2013, Ahasan ve ark. 2015).

Çizelge 2.1. Probiyotik mikroorganizmalar için belirlenen kriterler

Suş seçiminde belirlenen kriterler	Özellik
Güvenirlilik	<p>İnsan için kullanılacak suşlar, insan orjinli olmalıdır.</p> <p>Sağlıklı bir insanın mide-bağırsak sisteminden izole edilmelidir.</p> <p>Patojen özellik göstermemeli, toksin üretmemelidir.</p> <p>Suş ve türü kesin olarak tanımlanmış olmalıdır.</p> <p>Herhangi bir gastrointestinal bozukluğa sebep olmamalı, hastalık oluşturmamalıdır.</p> <p>Safra tuzlarıyla etkileşime girmemelidir.</p> <p>Sağlık üzerine olumlu etkisi klinik olarak kanıtlanmış olmalıdır.</p> <p>Aktarılabılır antibiyotik direnç genlerini taşımamalıdır.</p>
Verim ve Fonksiyonallite	<p>Mide asidine ve salgılarına karşı dirençli olmalıdır.</p> <p>Safra tuzlarına karşı dayanıklı olmalıdır.</p> <p>Bağırsakta yer alan lizozim gibi enzimlere, toksik metabolitlere dirençli olmalıdır.</p> <p>Antimikrobiyel madde üretme yeteneğine sahip olmalı (bakteriyosinler, hidrojen peroksit, organik asitler ya da diğer inhibe edici bileşikler)</p> <p>Mukoza yüzeyine tutunabilmeli, gastrointestinal sistemde geçici olarak kolonize olmalıdır.</p> <p>Bağırsaklık sistemini uyarıcı etkiye sahip olmalıdır.</p> <p><i>Helicobacter pylori</i>, <i>Salmonella</i> spp., <i>Listeria monocytogenes</i> ve <i>Clostridium difficile</i> gibi patojen mikroorganizmalara karşı antagonistik etki göstermelidir.</p> <p>Bağırsak sistemindeki normal flora ile rekabet edebilmelidir.</p> <p>Antimutajenik ve antikarsinojenik etkiye sahip olmalıdır.</p>
Teknolojik Uyum	<p>Ürünün organoleptik özelliklerini kötü yönde etkilememelidir.</p> <p>Faja karşı dirençli olmalıdır.</p> <p>Büyük ölçekte üretime ve depolamaya uygun olmalıdır.</p> <p>Ürünün raf ömrü boyunca istenen sayıda canlı kalabilmelidir.</p>

Birçok klinik tablonun ortaya çıkışı için, patojen mikroorganizmaların konağın hücrelerine veya mukozal yüzeylerine tutunması gerekmektedir (Önal ve ark 2005, Kara ve Parlakay 2011). Bazı bifidobakteri ve laktobasil türlerinin *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*'un Caco-2 hücrelerine bağlanmayı engellediği belirtilmiştir (Tuomola ve ark 1999, Collado 2007). Probiyotik bakterilerin bunu fiziksel olarak bağlanma noktalarının blokasyonu, özgün olmayan şekilde bağlanma noktalarının inaktivasyonu veya mukozada agregasyon oluşturarak sağladığı bilinmektedir (Kara ve Parlakay 2011, Brito ve ark 2012, Mukhopadhyay ve Ganguly 2014).

Probiyotik mikroorganizmaların diğer bir türün sayısını azaltma veya bağırsak sisteminden uzaklaştırma için kullandıkları mekanizmalar çeşitlidir. Bu mekanizmalar, mikrobiyotanın içeriğini değiştirmek, olası bakteri reseptör bölgelerini elimine etmek, antimikrobiyel bileşikler ve özel metabolitler salgılamak, lümen pH'sını düşürmek, toksinlerin inaktivasyonunu sağlamak, patojen mikroorganizmanın gelişimi için gerekli besin elementlerini tüketmek olarak sıralanabilir (Ohashi ve Ushida 2009, Sonnenborn ve Schulze 2009, Salminen ve ark. 2010, Brito ve ark. 2012, Rajput ve Li 2012).

Probiyotik mikroorganizmaların önemli etki mekanizmalarından bir diğeri düşük (<1000 Da) ve yüksek moleküler ağırlıkta (>1000 Da) bileşikler üretmesidir. Bu bileşikler organik asitler, kısa zincirli yağ asitleri, hidrojen peroksit, bakteriosin, nitrik oksit olarak sıralanabilmektedir (Oelschlaeger 2010, Pithva ve ark. 2011). Probiyotik mikroorganizmalar fermentasyon yolu ile laktik, fenillaktik, asetik ve propiyonik asit sentezler, bağırsak pH'sını düşürerek nötr ya da bazik ortamda yaşayan patojen mikroorganizmaların gelişimini inhibe ederler (Hemaiswarya ve ark. 2013). Bakteriosinler, çeşitli laktik asit bakterileri tarafından üretilen protein veya peptid yapıda hassas hücrelerdeki reseptörlere bağlanabilen antimikrobiyel maddelerdir. Genellikle yakın türler üzerine inhibisyon etki gösteren bu maddeler *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium tyrobutyricum*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve vankomisine dirençli enterokoklar gibi bazı gıda kaynaklı patojenler üzerinde de etkili olmaktadır (Mantovani ve ark. 2011). Hedef mikroorganizma üzerindeki öldürücü etkisi hücre zarında gözenek oluşumu ve hücre çeperi sentezinin engellenmesi yoluyla gerçekleşmektedir (Brito ve ark. 2012).

Lactobacillus acidophilus'un asidoin, asidofilin, laktasin B ve laktosidin; *Lactobacillus brevis*'in brevisin, *Lactobacillus bulgaricus*'un bulgarisin, *Lactobacillus lactis*'in laktisin ve nisin, *Lactobacillus reuteri*'nin reuterin, *Enterococcus faecium*'un enterosin bileşiklerini ürettiği birçok kaynak tarafından belirtilmiş ve antimikrobiyel aktivelere üzerine çalışılmıştır (O'sullivan ve ark. 2002, Nes ve ark. 2015, Alvarez-Sieiro ve ark. 2016, Souza ve ark. 2017).

Vücudun bağışıklık sisteminin yaklaşık %70'i bağırsak yolunda yer almaktadır. İmmün yanıtın amacı potansiyel alerjenlere, patojen bakterilere, virüslere ve parazitlere karşı vücudu korumaktır (Hermann 2014). Probiyotik mikroorganizmalar interleukin-10 (IL-10) üreten dendritik hücrelerini (DCs) indüklemekte ve böylelikle doğal öldürücü hücre aktivitesini arttırmaktadır. Sitokin ve kemokin üretimini düzenleyen dendritik hücrelerin olgunlaşmasına yardımcı olmaktadır. Bazı probiyotik türler bağırsak hücrelerinin antimikrobiyel peptit (defensin) üretimini stimüle etmektedirler. Mukozal immünitede önemli rol oynayan ve mukozal bariyeri bakteri penetrasyonuna karşı korumada görevli olan IgA salgısını arttırmaları. T hücrelerinde IL-10 ve transforme edici büyüme faktörü betanın (TGF- β) da aralarında bulunduğu anti-enflamatuar sitokinlerin yapım ve salınımını arttırmaları. Böylelikle patojen türler tarafından oluşan enflamasyonu azaltmaya veya önlemeye çalışırlar. İstenmeyen immün gelişimini baskılayarak alerjik reaksiyonları önlerler. Kalın bağırsakta oluşturdukları butirat, propiyonat, asetat gibi kısa zincirli yağ asitleri ile bağırsak epitel hücrelerinin proliferasyonunu arttırıp, apoptozunu önlerler (Cengiz ve Çelik 2011, Delcenserie ve ark. 2012, Howarth ve Wang 2013, Purchiaroni ve ark 2013, Hermann 2014).

2.3. Probiyotik Kullanımının İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Probiyotik mikroorganizmaların sağlık üzerine olumlu etkileri bilimsel çalışmalarla ortaya konmuştur. Günümüzde, gelişen teknoloji sayesinde birçok yeni olumlu etki açığa çıkmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların laktoz sindirimine katkıda bulunduğu, çeşitli nedenlerle gelişen ishalleri önlediği ya da ishal süresini azalttığı, konstipasyon ve alerjiyi engellediği, kalp ve damar hastalıkları, ağız ve diş eti

hastalıklarına alternatif tıp olarak sunulabileceği, *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla kanıtlanmıştır.

Laktaz enziminin eksikliğine bağlı laktozun parçalanamaması, hem ince bağırsakta hem de kalın bağırsakta laktoz ve ürünlerinin artışına neden olmaktadır. Bazı fırsatçı mikroorganizmalar mevcut laktozu kullanarak laktik asit ve hidrojen oluşumuna yol açmaktadır. Bağırsak lümeninde osmatik basıncın artışı bu alana su çekilmesine yol açarak hem ikincil olarak ishale hem de bağırsak lümeninin gerilmesine neden olmaktadır. Tüm bunların sonucu olarak kolik benzeri ağrı nöbetleri ortaya çıkabilmektedir (Çokuğraş ve Beşer 2011). Probiyotik mikroorganizmalar laktozu besin olarak kullanıp sindirmekte ve böylelikle laktaz enzim eksikliği çeken bireylerde laktoz sindirimine katkıda bulunmaktadır (Iqbal ve ark. 2014).

Antibiyotik kullanımına bağlı gelişen antibiyotik ilişkili ishal, özellikle çocuklarda görülen rotavirüs ve parazit kaynaklı ishal ve çoğunlukla patojen bakteriler nedeniyle meydana gelen seyahat ishallerinin önlenmesinde bazı probiyotik mikroorganizmaların olumlu etkileri olduğu belirtilmiştir. *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* ve *Saccharomyces boulardii*'nin yanı sıra *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus bulgaricus* ile kombine *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus acidophilus* ile kombine *Bifidobacterium infantis*'in bu amaçla kullanıldığı ve tedavi edici oldukları tespit edilmiştir (Tonguç 2006, Htwe ve ark. 2008, Tezer ve Aykan 2011, Soysal ve Kuzdan 2011, Kurugöl ve Aslan 2011, Kara ve Parlakay 2011, Tümgör ve Turgut 2011, Gogineni ve ark. 2013, Sarowska ve ark. 2013).

Konstipasyon, toplumun tüm yaş gruplarında görülen gastrointestinal sistem sorunlarından biridir (Malaguarnera ve ark. 2013, Dimidi ve ark. 2014). Probiyotik mikroorganizmaların üretmiş olduğu kısa zincirli yağ asitlerinin bağırsakta düşük pH'ya sebep olmasıyla kolondaki peristaltik hareketlerin arttığı belirtilmektedir. Ayrıca *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 un 10 gün kullanımıyla kolondaki geçiş süresini azalttığı tespit edilmiştir (Malaguarnera ve ark. 2013). Asburçe ve ark.'nın (2013) yapmış olduğu çalışmada, fonksiyonel kabızlık görülen çocuklarda *Lactobacillus reuteri*'nin (DSM 17938) etkisi araştırılmıştır. Dört haftalık tedavi sonunda karın

ağrısında %64, gaz çıkarma yakınmasında %44, ağırlı dışkılamada %80, dışkı tutma davranışında ise %28 azalma saptanmıştır.

Probiyotik mikroorganizmalar, dış antijenlere cevapta Th1/Th2 dengesinin düzensizliği sebebiyle meydana gelen alerjinin muhtemel tedavisi olarak görülmektedir. Hijyen hipotezini de barındıran birçok teoriye göre modern yaşam tarzının alerjik hastalıklarının gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir (Heyman ve Menard 2002). Alerji semptomlarının azaltılmasında probiyotik mikroorganizmaların iki farklı mekanizması etkilidir. İlki bağırsak mikroflorasını iyileştirerek membran geçirgenliğini azaltmak, ikincisi ise IgA salgısını artırarak immünolojik savunma sistemini uyarmaktır (Iqbal ve ark 2014). Bu mekanizmaları ve sağlık üzerine etkilerini doğrulayan çalışmalar bulunmaktadır (Wickens ve ark. 2008, Yüksel 2011, Kim ve ark. 2013).

Probiyotik mikroorganizmaların, kronik gastrit, peptik ülser ve mide kanseri ile ilişkili *Helicobacter pylori* kolonizasyonunu ve aktivitesini azalttığına dair bilimsel araştırmalar mevcuttur (Sanders 1999, Kaur ve ark. 2010). İnsanlarda ve gnotobiyotik farelerde yapılan çalışmalarda *Lactobacillus salivarius*'un (WB1004) *H. pylori* kolonizasyonunu önlediği, hatta *H. pylori* ile enfekte edildikten sonra probiyotik verilen farelerde de kolonizasyonun azaldığı tespit edilmiştir. Ancak, aynı etki *L. casei* ve *L. acidophilus* da görülmemiştir. *In vitro* yapılan bir deneyde, *H. pylori* inhibisyonunda laktik asidin, hidroklorik ya da asetik asite nazaran daha fazla etkisi olduğu belirtilmektedir (Sanders 1999). Yapılan bu çalışmalar sayesinde, *H. pylori* inhibisyonunda suşa özgü bir etki olduğu ortaya konmuştur.

Deneysel çalışmalar probiyotik tüketiminin çeşitli tip kanser ve özellikle kolon kanserini önleyebileceğini ileri sürmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların kolon kanserini önleme mekanizmaları; mutasyon ve DNA hasarını azaltması, kanser oluşumuna eşlik eden β -glukuronidaz, nitroredüktaz, azoredüktaz enzim aktivitelerini azaltması, mutajenleri etkisizleştirilmesi, kısa zincirli yağ asitleri üretimi ile asiditeyi arttırması, kanserli hücre apoptozunu (programlı ölüm) hızlandırması, pro-karsinojenleri kansinojenlere dönüştüren β -glukuronidaz enzimini üreten *Escherichia coli* ve

Clostridium spp. 'nin inhibe etmesi olarak sıralanabilmektedir (Aydın 2006, Liong 2008, Shmuelly 2013, Oraç ve Akın 2013).

Kardiyovasküler hastalıklar sebebiyle gerçekleşen ölümler, gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde hızlı bir şekilde artmaktadır (Dirienzo 2013). Kalp ve damar hastalıkları doğrudan kandaki kolesterol seviyesi ile ilişkilendirilmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların kolesterol seviyesini düşürücü etkisi kısa zincirli yağ asitleri üretimi ile fizyolojik aktivitesi, kolesterolün asimilasyonu, safra asitlerinin dekonjugasyonu ve bakteri hücre duvarına kolesterolün bağlanması ile dört farklı mekanizma ile gerçekleşmektedir (Akbarzadeh ve Homayouni 2012, Thushara ve ark. 2016).

Crohn hastalığı ve ülseratif kolit, genel olarak inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBH) olarak adlandırılan, nedeni henüz anlaşılamayan kronik bağırsak iltihaplanmasıdır (Iqbal ve ark. 2014). IBH, genetik ve çevresel faktörlerle ilişkili bir hastalıktır (Orel 2009). Probiyotik mikroorganizmaların IBH üzerindeki yatıştırıcı etkisi; patojenlerle epitel hücrelerindeki bağlanma bölgeleri için rekabet etmesi, antimikrobiyel maddelerin salınımı ile patojenlerin gelişimini inhibe etmesi, bağırsak ilişkili lenfoid dokularda (gut-associated lymphoid tissue-GALT) ve epitel hücrelerde gerçekleştirdiği immün düzenleyici faaliyetleri ve bariyer özelliğini güçlendirmesi ile açıklanmaktadır (Fedorak ve Madsen 2004, Mikov ve ark. 2014).

Ağız boşluğunda bin kadar mikroorganizma türünün yaşadığı ve bu planktonik (suda bulunan ve hareket yeteneği akıntıya bağlı gerçekleşen) mikroorganizmaların dental biofilme yerleşmiş olarak bulunduğu bilinmektedir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda, probiyotik türler arasında tükürükle kaplı sert yüzeylere tutunma kabiliyetlerinin farklı olduğu görülmüştür. *L. rhamnosus* GG'nin (ATCC (American Type Culture Collection) 53103) en yüksek adezyon kapasitesine sahip olduğu, *L. bulgaricus*'un ise ağız boşluğundaki sert yüzeylere çok az tutunabildiği belirtilmiştir (Yalınzoğlu 2012). Bu nedenle ağız ve diş eti sağlığı için kullanılacak probiyotik suşlar kısıtlıdır. *L. salivarius*, *L. reuteri* bu konuda en çok çalışılan probiyotik bakterilerdir (Lawande 2012, Joshi ve ark. 2015).

Üst solunum yolu enfeksiyonları (ÜSYE) en sık görülen enfeksiyonlardır. Yıllık verilere bakıldığında hekimlerin en sık antibiyotik kullandıkları enfeksiyonların başında üst solunum yolu enfeksiyonları gelmektedir (Arıca 2011). Farklı yaş gruplarında yapılan 13 farklı randomize kontrollü deneyde, üst solunum yolu enfeksiyonlarında probiyotik kullanan grubun plasebo gruba göre daha iyi sonuç verdiği, hastalık süresini azalttığı vurgulanmaktadır (Tapiovaara 2016). Leyer ve ark.'nın (2009) yapmış oldukları çalışmada, probiyotik kullanan grubun; ateşli enfeksiyon oluşma oranı, öksürük, burun akıntısı ve antibiyotik kullanım oranının plasebo gruba göre belirgin derecede az olduğu belirtilmiştir.

2.4. Bakteri Gelişim Eğrilerinin Belirlenmesi

Bakteri gelişimi sayısız anabolik ve katabolik reaksiyon içeren kompleks bir süreçtir. Bakteri gelişimlerine dair birçok bilgi saf kültürlerin kullanıldığı kontrollü laboratuvar ortamlarından elde edilmektedir. Eğer bakterinin gelişip çoğalması için gerekli olan tüm koşullar sağlanırsa, bakteri sayısı ya da bakteriyel kütle yoğunluğunun zamana bağlı grafiği o bakteriye ait gelişim eğrisini vermektedir (Maier 2008).

Bir bakteri kültürü uygun bir besiyerine inoküle edilip, inkübasyon süresince belli aralıklarla besiyerinden örnekler alarak koloni sayım tekniğiyle ekimleri yapılmakta ve sonuçların grafiksel olarak gösterilmesiyle gelişim eğrisi elde edilebilmektedir (Ingraham ve ark. 1983)

Ekponansiyel faz olan dönemde, bakteri sayısı 2^n olarak artmaktadır. Bakteri sayısının her iki katına çıkması için geçen süre jenerasyon süresi (t_g) olarak adlandırılmaktadır (Widdel 2007).

$$N = N_0 2^n \quad (2.1)$$

$$n = t/t_g \quad (2.2)$$

Bu durumda denklem (2.1) aşağıdaki gibi yazılabilmektedir.

$$N = N_0 2^{t/t_g} \quad (2.3)$$

Spesifik gelişme hızı (μ) ise hücre kütlelerinin toplam biyokütleyle göre birim zamandaki artışı olarak ifade edilmektedir. Ekponansiyel faz bir bakterinin gelişme fazıdır ve matematiksel ifade şekli;

$$\frac{dN}{dt} = \mu N \quad (2.4)$$

$$N = N_0 e^{\mu(t-t_0)} \quad (2.5)$$

$$\ln N - \ln N_0 = \mu(t - t_0) \text{ ya da } \log N - \log N_0 = \mu/2,303 (t - t_0) \quad (2.6)$$

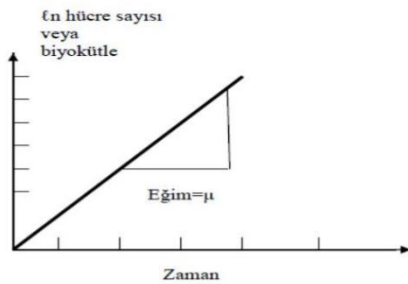
Burada t = süreyi, t_g = jenerasyon süresini N =aynı sürede belirlenen bakteri sayısını (kob ml^{-1}), N_0 = başlangıçtaki bakteri sayısını (t_0 anında kob ml^{-1}), μ = spesifik gelişme hızı sabitini (sa^{-1}) ifade etmektedir.

2'nin matematiksel karşılığı $e^{\ln 2}$ şeklinde yazıldığında ve denklem (2.3) buna göre düzenlendiğinde aşağıdaki denklem (2.7) elde edilmektedir.

$$N = N_0 (e^{\ln 2})^{t/t_g} \quad (2.7)$$

$$\frac{\ln 2}{t_g} = \frac{0,693}{t_g} = \mu \quad (2.8)$$

Bakterinin gelişim eğrisi grafiğinden spesifik gelişme hızı (μ); zamana karşılık çizilen ekponansiyel fazdaki bakteri sayısının \ln ifadesinin eğiminden elde edilmektedir.



$$\ln N - \ln N_0 = \mu(t - t_0)$$

$$\mu = \frac{\ln N - \ln N_0}{t - t_0}$$

Şekil 2.1. Spesifik gelişme hızının hesaplanması

Banina ve ark.'nın (1998) yapmış olduğu çalışmada, *L. acidophilus*'un farklı suşlarının 30, 37 ve 42 °C'de gelişme hızı ve jenerasyon süreleri değerlendirilmiştir. Her iki suş içinde optimum sıcaklık 37 °C olarak tespit edilmiştir. Gelişim eğrilerinde suşa özgü farklılıklar olduğu ortaya konulmuştur.

L. rhamnosus'un 30, 35 ve 41 °C'deki gelişme eğrileri incelenmiş, 41 °C'de inkübasyona bırakılan bakterilerin durağan faza 9 saatte ve diğer sıcaklıklara göre daha hızlı ulaştığı tespit edilmiştir (Valik ve ark. 2008).

Gelişme kinetiğinin pH ölçümleriyle incelendiği araştırmada, *B. longum* steril süte %0,2 oranında ilave edilmiş, kültürlenmiş steril süt 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Koagülasyon sonrasında her 2 saatte bir pH ölçümleri yapılmıştır. 20 saat sonunda 6,80 den 4,00 pH'ya düştüğü, optimum üremenin 37-41 °C de olduğu ve 20 °C'nin altında 46 °C üstünde gelişim olmadığı tespit edilmiştir (Mahmoudi ve ark. 2013).

L. bulgaricus'un MRS broth besiyerinde bakteri gelişim eğrisinin incelendiği çalışmada, 37 °C'de 10 saat sonunda durağan faza ulaştığı ancak 4 saat sonrasında bakteri sayısında artış olduğu ve 18. saatte en yüksek sayıya ulaştığı tespit edilmiştir. Ayrıca *L. acidophilus*'a göre 2 saat daha erken eksponensiyal faza ulaştığı belirtilmiştir (Minh 2014).

M17 broth besiyerinde *S. thermophilus*'a ait 4 farklı suşun gelişme eğrileri yarım saat aralıklarla 600 nm'de optik yoğunluk ölçümü ile belirlenmiş ve 43 °C'de inkübasyona bırakılan suşların 5 saat sonunda durağan faza ulaştıkları görülmüştür (Soydemir 2008).

2.5. Sarımsağın İnhibisyon Etkisi

Allium sativum olarak da bilinen sarımsak, keskin aroması ve lezzet verici özelliği ile dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra antik Mısır döneminden beri sağlık üzerine olumlu etkileri bilinmektedir. Yaklaşık olarak %84,09 su, %13,38 organik (çoğunlukla karbonhidrat) ve %1,53 inorganik (çoğunlukla sülfür ve demir) madde içeriğine sahiptir. Sarımsak ezildiğinde, alinaz enziminin aliini parçalaması sonucu açığa çıkan sarımsağa özgü tat ve kokuyu veren, antibiyotik ve antifungal bir bileşik olarak bilinen alisin salınır. Sülfür içerikli alisin bileşiğine ilaveten, sülfür içermeyen fitoaleksinin antioksidan, antimikrobiyel, antitümör, aflatoksin B2 inhibe edici, nöropatik etkisi olduğu kanıtlanmıştır (Tsai ve ark. 2012, Valente 2014).

2007 yılında sarımsak (*Allium sativum*) ekstraktının, insan diş çürüğünden izole edilen çoklu ilaç direnci gösteren 28 adet *Streptococcus mutans* suşu üzerindeki etkisi disk difüzyon metodu ve minimum inhibisyon konsantrasyonu ölçümleriyle incelenmiştir. Tüm izolatların sarımsak ekstraktına karşı duyarlı olduğu ve 22-44 mm inhibisyon çapı oluşturdukları ve konsantrasyonun 4-32 µg/mL arasında değiştiği tespit edilmiştir (Fani ve ark. 2007).

Bazı baharatların (karabiber, sarımsak) *B. cereus*, *S. enteritidis*, *S. aureus*, *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 (ATCC 35150) gıda patojenleri üzerindeki inhibisyon etkisinin incelendiği çalışmada, agar kuyu difüzyon yöntemi ile oluşan inhibisyon zonları mm olarak ölçülmüştür. Sarımsağın, tüm patojen bakteriler üzerine laktik asit bakterilerine oranla daha güçlü inhibisyon etki gösterdiği ve en duyarlı bakterinin 26 mm zon çapıyla *S. aureus* B60 olduğu tespit edilmiştir (Taş 2008).

Sarımsağın patojen bakterileri inhibe etmesinin yanı sıra probiyotik bakteriler üzerinde de aynı etkiye sahip olduğu, bazı türlerin daha fazla ya da daha az etkilendiği belirlenmiştir. *Bifidobacterium* spp., *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* üzerine sarımsağın inhibisyon etkisini inceleyen çalışmalar da bulunmaktadır (Sanchez 2013, Booyens ve Thantscha 2013, Marhamatizade 2015).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Süt

Cacık üretiminde kullanılan kurumaddesi arttırılmış ve pastörize edilmiş inek sütü Bursa bölgesindeki süt işleyen fabrikalardan tedarik edilmiştir. Pastörize edilmiş sütün ortalama bileşimi ve pH'sı Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Pastörize edilmiş sütün ortalama bileşimi ve pH değeri

Pastörize Süt	Yağsız Kurumadde (%)	Yağ (%)	Protein (%)	Homojenizasyon Etkinliği	pH
	11,57	3,16	3,97	92,45	6,55

3.1.2. UHT süt

Çalışmada hazırlanan liyofilize kültür kombinasyonları tam yağlı UHT süt içerisinde çözündürülmüştür. Kullanılan UHT sütün bileşimi ve pH'sı Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. UHT sütün bileşimi ve pH değeri

UHT Süt	Kurumadde (%)	Yağ (%)	Protein (%)	pH
	11,20	3,13	3,07	6,70

3.1.3. Yoğurt ve probiyotik bakteri kültürleri

Araştırmada *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* suşlarını içeren 1 adet karışık kültür Chr. Hansen (Hoersholm, Danimarka) firmasından ve ayrı ayrı tek tip suş içeren *L. acidophilus* 74-2, *L. rhamnosus* Howaru (HN001™), *B. longum* BB536 probiyotik kültürleri Danisco (Niebüll, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Kullanılan liyofilize kültürler direkt kültür olup doğrudan pastörize ürün içerisine katılabilecek özelliktedir.

3.1.4. Hıyar

Cacık üretiminin ana maddelerinden biri olan hıyar Bursa Nilüfer bölgesinde bulunan bir süpermarketten temin edilmiştir.

3.1.5. Sarımsak

Sarımsak Bursa Nilüfer bölgesinde bulunan bir süpermarketten temin edilmiştir.

3.1.6. Nane

Mentha cinsine giren kültür bitkilerinin tekniğine uygun olarak kurutulmuş, yapraklarının saplarından sıyrılıp ufalanması ile elde edilen steril nane, İzmir’de faaliyet gösteren bir baharat firmasından temin edilmiştir. Naneye ait kimyasal ve mikrobiyolojik analizler Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Naneye ait kimyasal ve mikrobiyolojik analizler

	Kül	Nem	Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri	Küf – Maya
Nane	(%)	(%)	(kob/g)	(kob/g)
	8,6	9,1	100	<10

3.1.7. Zeytinyağı

Cacık üretiminde kullanılan zeytinyağı, Bursa’da faaliyet gösteren bir firmadan temin edilen sızma zeytinyağıdır.

3.1.8. Tuz

İyotsuz sofrata tuzu Bursa’da faaliyet gösteren bir firmadan temin edilmiştir.

3.1.9. Besiyerleri ve çözeltiler

Mikroorganizmalar aşağıda içerikleri belirtilen besiyerlerinde uygun koşullarda geliştirilmiş ve sayımları yapılmıştır.

MRS sıvı hazır besiyeri (Merck, Darmstadt, Almanya) 121 °C’de 15 dakika, *Bifidobacterium longum* için ise 118 °C’de 15 dakika steril edilmiş, bakteri gelişim eğrilerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. MRS katı hazır besiyeri (Oxoid, Basingstoke, İngiltere) 121 °C’de 15 dakika steril edilmiş, bakteri gelişim eğrilerinde *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *B. longum* sayımları için kullanılmıştır. Ayrıca farklı çözeltiler ilave edilerek seçici besiyeri özelliği kazandırılmış ve cacık ürünüde probiyotik ve starter mikroorganizma sayımları yapılmıştır. M17 katı hazır besiyeri (Oxoid, Basingstoke, İngiltere) 121 °C’de 15 dakika steril edilmiş, 50 °C altına soğutulmuştur. Kullanımdan hemen önce laktoz solüsyonu ilave edilmiş ve *S. thermophilus* sayımı gerçekleştirilmiştir. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımları için Milk Plate Count Agar (MPCA) (Oxoid, Basingstoke, İngiltere) 121 °C’de 15 dakika steril edilerek hazırlanmıştır. Aynı şartlarda steril edilmiş YGC agar (Merck, Darmstadt, Almanya) küf-maya sayımında kullanılmıştır.

L. acidophilus ve *B. longum* sayımları için aşağıda miktarları verilen maddeler eklenerek oluşturulan MRS-IM seçici besiyeri hazırlanmıştır. Tüm karışım 1 L distile su ile tamamlanmış, kaynatılarak bileşimin iyice çözünmesi sağlanmıştır. 200 mL lik kapaklı cam şişelere aktarılarak 121 °C’de 15 dakika steril edilmiştir.

Çizelge 3.4. MRS-IM agar içeriği

Bileşim	g/L
Trypton (Oxoid LP 0042)	10,0
Maya özütü (Merck 1.03753.0500)	5,0
Tween 80 (Merck 822187)	1,0
Di-potasyum hidrojen fosfat (Merck 1.05101.1000)	2,6
Sodyum asetat trihidrat (Merck 1.06267.1000)	5,0
Di-amonyum hidrojen sitrat (Merck 1.01154.0500)	2,0
Magnezyum sülfat heptahidrat (Merck 1.05882.2500)	0,2
Manganez(II) sülfat tetrahidrat (Merck 1.02786.1000)	0,05
Agar-agar (Oxoid LP0011)	13,0

Seyreltme amacıyla kullanılan Ringer çözeltisi (Merck, Darmstadt, Almanya) 500 mL distile suya 1 adet tablet ilave edilerek hazırlanmış ve 121 °C’de 15 dakika steril edilmiştir.

B. longum sayımında seçici besiyeri elde etmek amacıyla MRS-IM agar içerisine A, B, C ve glukoz çözeltileri hazırlanmıştır. A çözeltisi için 0,01 g dikloksasilin sodyum monohidrat (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) 100 mL distile su ile tamamlanıp, 0,45 mikronluk filtreden geçirilerek steril edilmiştir. 2,0 g lityum klorid (Merck, Darmstadt, Almanya) 18 mL distile su ile tamamlanıp, 0,45 mikronluk filtreden geçirilerek steril edilmiş ve bu çözelti B çözeltisi olarak isimlendirilmiştir. C çözeltisi için 10,0 g sistein hidroklorür (Merck, Darmstadt, Almanya) 100 mL distile su ile tamamlanıp, 121 °C’de 15 dakika steril edilmiştir. Glukoz çözeltisi için ise 20,0 g D(+) glukoz mono hidrat (Merck, Darmstadt, Almanya) tartılmış ve 100 mL distile su ile tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti 0,45 mikronluk filtre ile steril edilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir. *L. acidophilus* sayımında, %20 (w/v)’lik maltoz mono hidrat (Merck, Darmstadt, Almanya) içeren çözelti 0,45 mikronluk filtreden geçirilerek steril edilmiş ve maltoz çözeltisi olarak kullanılmıştır.

Laktoz çözeltisi için 10,0 g laktoz (bakteriyolojik sınıf) (Oxoid, Basingstoke, İngiltere) 90 mL distile su ile tamamlanıp, 121 °C’de 15 dakika steril edilmiştir. Hazırlanan çözelti *S. thermophilus* sayımında kullanılmıştır.

L. rhamnosus sayımında seçici besiyeri elde etmek amacıyla 1,0 g vankomisin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) 100 mL distile su ile tamamlanıp, 0,45 mikronluk filtreden geçirilmiş, kullanımdan hemen önce MRS agar içerisine ilave edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Mikroorganizma sayım yöntemleri

Çizelge 3.5’de yapılan ekimlerde kullanılan agar ve inkübasyon koşulları ile ilgili bilgiler verilmiştir.

Çizelge 3.5. Yoğurt ve probiyotik bakteri sayımı için agar ve inkübasyon koşulları

Mikroorganizma	Agar	İnkübasyon Koşulları
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Laktozlu M17 Agar	Aerobik 37°C-48 sa
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	MRS Agar	Anaerobik 42°C-72 sa
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Maltozlu MRS-IM Agar	Aerobik 37°C-72 sa
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Vankomisinli MRS Agar	Anaerobik 37°C-48 sa
<i>Bifidobacterium longum</i>	Glukoz,A,B,C çözeltili MRS-IM Agar	Anaerobik 37°C-72 sa

B. longum sayımı için, 20 mL glukoz çözeltilisi, 1 mL A, 2 mL B, 1 mL C çözeltilisi 200 mL 45°C deki MRS-IM agara eklenmiştir.

Maltozlu MRS-IM agar hazırlamak amacıyla 20 mL maltoz çözeltilisi 200 mL 45°C deki MRS-IM agara eklenmiştir.

4 mL vankomisin çözeltilisi 200 mL 45°C deki MRS agara eklenmiş, *L. rhamnosus* sayımı için kullanılmıştır.

S. thermophilus seçici besiyeri hazırlamak için 5 mL laktoz çözeltilisi 95 mL 45°C'deki M17 agara eklenmiştir. Tüm çözeltiler kullanımdan hemen önce ilave edilmiştir.

3.2.2. Bakteri gelişim eğrilerinin belirlenmesi

Çalışmada kullanılan tüm bakterilerin gelişim eğrileri için MRS Broth besiyeri kullanılmıştır. Bakteriler 99 mL MRS Broth besiyerine ayrı ayrı 1 g ilave edilerek 37 °C'de inkübasyona bırakılmış, 24 saat boyunca her saat başı örnek alınarak bakteri gelişim eğrileri oluşturulmuş ve spesifik gelişme hızı (μ) hesaplanmıştır. Dökme plak yöntemi ile 3 tekerrürlü 2 paralel olarak MRS agarda ve sadece *S. thermophilus* için laktozlu M17 agarda mikroorganizma sayımları alınmıştır. *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* suşları içeren karışık kültür birlikte, probiyotik kültürler ise ayrı ayrı değerlendirilmiştir (Valik ve ark. 2008). *B. longum*'un gelişim eğrisinin belirlenebilmesi için 2 g *B. longum* 198 mL MRS sıvı besiyerine ilave edildikten sonra 24 ayrı tüpe

ayrılmıştır. Böylelikle numune alım esnasında oluşabilecek oksidatif stresin gelişimi etkilemesi engellenmiştir.

3.2.3. Disk difüzyon metodu ile sarımsağın probiyotik ve yoğurt bakterileri üzerine etkisinin belirlenmesi

Sarımsaklar soyularak steril numune kabına rendelenmiş ve 100 g rendelenmiş sarımsak steril cendere bezi kullanılarak öz suyu alınmıştır (Taş 2008). Ardından yoğurt ve probiyotik bakteri kültürleri ayrı ayrı 1 g tartılarak, 99 mL MRS Broth besiyerine inoküle edilmiştir. Yayma plak tekniği kullanılarak MRS agar yüzeyine 0,1 mL inokulum, Drigalski çubuğu ile yayılmıştır. Yeterli kuruma sonrası diskler agar yüzeyinin ortasına yerleştirilmiştir. Disk yüzeyine 10 µL sarımsak ekstraktı ilave edilmiştir. Çizelge 3.5’de yer alan inkübasyon koşullarında tüm petriler 72 saat inkübe edilmiştir.

3.2.4. Kültürlerin çözündürülmesi

Ayrı ayrı 4 adet %1’lik yoğurt ve probiyotik kültür içeren UHT sütler hazırlanmış ve steril pipet yardımıyla karıştırılmıştır.

3.2.5. Cacık üretimi

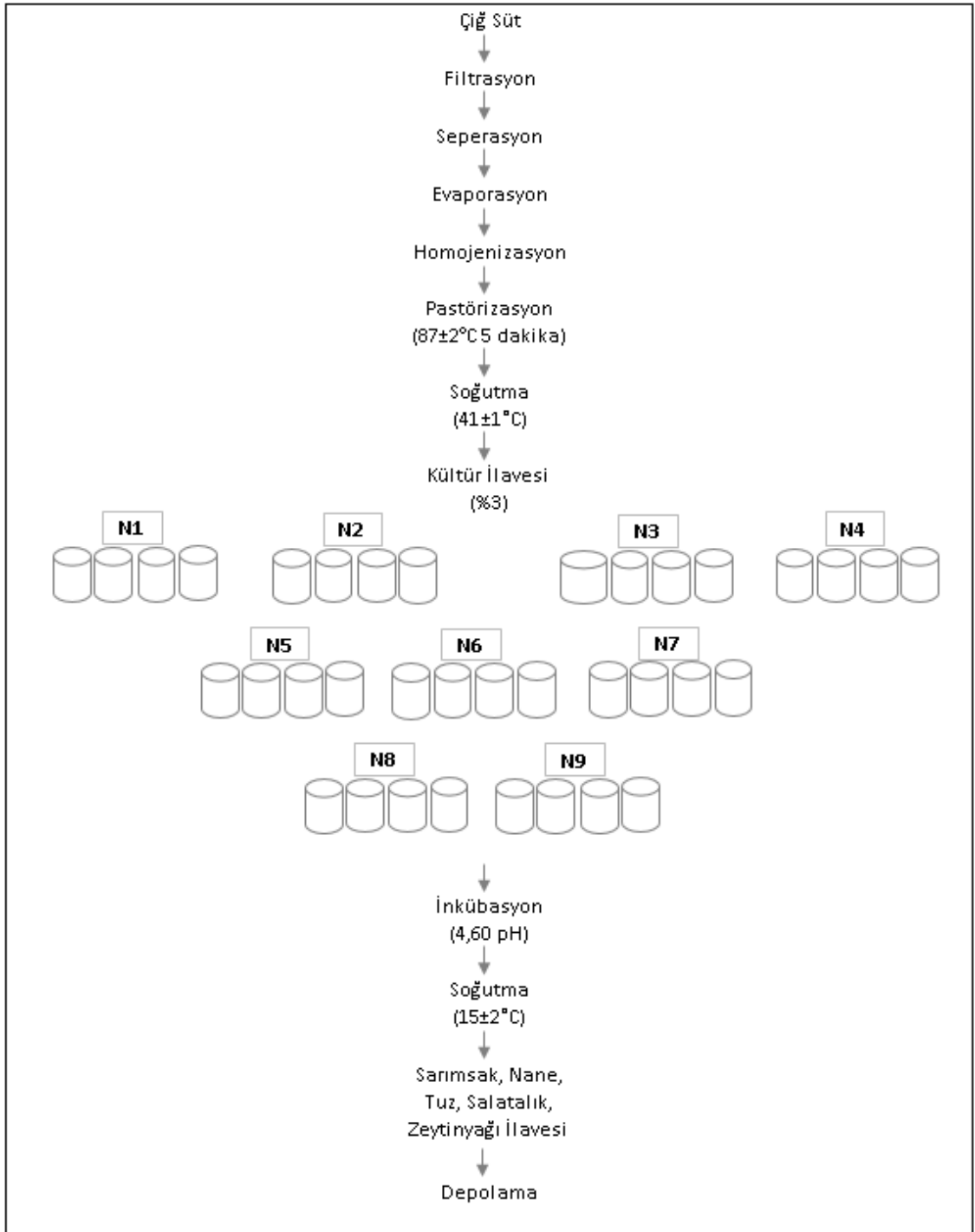
Cacık üretimi için pastörize edilmiş ve soğutulmuş süt temin edilmiştir. Fabrikada bazı proseslere tabi tutulan süt (41 ± 1 °C’ye soğutma adımına kadar) ve ardından yapılan işlemler Şekil 3.1’de şematize edilmiştir. Öncelikle paslanmaz çelikten yapılmış 1500 mikronluk filtreden pompa yardımıyla geçirilmiş ve yağ standardizasyonu amacıyla seperatöre iletilmiştir. Ardından evaporatöre aktararak kuru maddesi artırılmıştır. En az 150 bar basınçta homojenize edildikten sonra 87 ± 2 °C’de 5 dakika pastörize edilmiştir. Bu aşamadan sonra pastörize süt 4 °C’ye soğutulmuş olarak fabrikadan tedarik edilmiş, cacık üretimi öncesinde kültürleme sıcaklığı olan 41 ± 1 °C’ye ısıtılmıştır. Temin edilen 18 L süt, her bir grup için 4 adet ürün olacak şekilde 36 ayrı kaba 500 mL’lik hacimler halinde ayrılmıştır (Şekil 3.1).

Çalışmada ana kültür olarak yoğurt kültürü kullanılmış ve farklı probiyotik kültür kombinasyonları ile 9 farklı ürün elde edilmiştir. Çizelge 3.6'da elde edilen ürünlerin bakteri ve sarımsak içeriklerine dair bilgi verilmiştir. Kültürler %3 olacak şekilde ilave edilmiş, 4,60 pH'da inkübasyon sonlandırılarak buzdolabına alınmıştır. Ürün sıcaklığı 15 ± 2 °C'ye ulaştığında %0,02 oranında sarımsak, %0,02 oranında nane, %0,02 oranında tuz, %16,25 oranında rendelenmiş hıyar ilave edilmiştir.

Cacıklarda yapılan fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizler 3 tekerrür ve 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.6. Elde edilen ürünler

Deneme No	Kullanılan Kültür Kombinasyonları	İçerik
N1	<i>S. thermophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i>	Sarımsaksız
N2	<i>S. thermophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i>	Sarımsaklı
N3	<i>S. thermophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i> + <i>B. longum</i>	Sarımsaklı
N4	<i>S. thermophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i> + <i>L. acidophilus</i>	Sarımsaklı
N5	<i>S. thermophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i> + <i>L. rhamnosus</i>	Sarımsaklı
N6	<i>S. thermophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i> + <i>B. longum</i> + <i>L. acidophilus</i>	Sarımsaklı
N7	<i>S. thermophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i> + <i>B. longum</i> + <i>L. rhamnosus</i>	Sarımsaklı
N8	<i>S. thermophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i> + <i>L. rhamnosus</i> + <i>L. acidophilus</i>	Sarımsaklı
N9	<i>S. thermophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i> + <i>L. rhamnosus</i> + <i>L. acidophilus</i> + <i>B. longum</i>	Sarımsaklı



Şekil 3.1. Cacık üretimi akış şeması

3.2.6. Hammade analizleri

Fiziksel ve kimyasal analizler

pH analizi

Pastörize edilmiş proses sütü pH değeri Hanna marka pH metre ile belirlenmiştir.

Protein analizi

Pastörize edilmiş proses sütünün protein oranı Kjeltac 2200 Azot protein tayin cihazı ISO (2001) 8968– IDF 20-1 referans yöntemine uygun olarak belirlenmiştir. Bulunan azot yüzdesi 6,38 katsayısı ile çarpılarak % protein içeriği hesaplanmıştır.

Yağ analizi

ISO (2008) 2446 – IDF 226 referans yöntemine uygun olarak proses sütü yağ oranları hesaplanmıştır.

Kurumadde analizi

ISO (2004) 5534/ IDF 004:2004 referans metoda uygun olarak etüve kurutma yöntemi ile proses sütü kurumadde oranları belirlenmiştir.

Homojenizasyon etkinliği analizi

Pastörize sütte öncelikle ISO (2008) 2446 – IDF 226 referans yöntemine göre yağ analizi yapılmıştır. Ardından santrifüj pipetinin A çizgisine kadar kat süt çekilmiş ve altı lastik tıpa ile kapatılmıştır. 1200 rpm’de 30 °C’de 30 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra, santrifüj pipetinin içindeki süt B çizgisine kadar yavaşça bir behere boşaltılmış, pipetin içinde kalan süt atılmıştır. Behere aktarılan süttten tekrar ISO 2446 – IDF 226 referans yöntemine göre yağ analizi gerçekleştirilmiştir ve aşağıdaki formül ile homojenizasyon etkinliği hesaplanmıştır (Allahyari 2015).

$$\% \text{ Homojenizasyon etkinliği} = \frac{F2}{F1} \times 100 \quad (3.1)$$

F1 = Örneğin santrifüj öncesi yağ değeri

F2 = Örneğin santrifüj sonrası yağ değeri

Mikrobiyolojik analizler

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı

Proses sütünde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı MPCA agarda 30 °C'de 72 saat inkübasyon sonunda ISO 4833-1:2013 yöntemine göre belirlenmiştir.

Küf-maya sayısı

Cacık üretiminde kullanılacak olan nanede yapılan küf-maya sayımı YGC agarda 25 °C'de 5 gün inkübasyon sonunda ISO 6611/ IDF 94:2004 standardına uygun olarak tespit edilmiştir.

3.2.7. Cacıkta yapılan analizler

Fiziksel ve kimyasal analizler

pH analizi

Ürünlerin 0-21 günlük depolama süresi boyunca 24 saatte bir Hanna marka pH metre ile pH ölçümleri yapılmıştır. Ölçümler yapılmadan önce pH metre standart pH tampon çözeltileriyle kalibre edilmiş, doğrulama yapıldıktan sonra ölçümlere başlanmıştır.

Protein analizi

Cacıkların protein oranları Kjeltec 2200 Azot protein tayin cihazı ISO (2001) 8968 – IDF 20-1 referans yönteme uygun olarak belirlenmiştir. Bulunan azot yüzdesi 6,38 katsayısı ile çarpılarak % protein içeriği hesaplanmıştır.

Yağ analizi

Cacık örneklerinde yağ oranlarının belirlenmesi için 10 g örnek 1:1 oranında sulandırılmış ve Gerber yöntemi ile yağ analizi yapılmıştır. Sonuç 2 ile çarpılarak % yağ hesaplanmıştır (ISO 11870:2009, IDF 152:2009).

Kurumadde analizi

ISO (2004) 5534/ IDF 004:2004 referans metoda uygun olarak etüve kurutma yöntemi ile cacıkların kuru madde analizleri gerçekleştirilmiştir. Nikel petri kapları önce yıkanıp etüvde 103 ± 2 °C’de sabit tartıma gelene kadar kurutulmuş ve tartılmıştır. 3 g örnek petri kabına aktarılmış ve eşit şekilde yüzeye yayılmıştır. Petri kabının kapağı kapatılarak tartım alınmış ve 103 ± 2 °C sıcaklığa ayarlanmış etüvde 2,5 saat kurutulmuştur. Sabit tartıma getirildikten sonra aşağıdaki formül ile kurumadde içeriği belirlenmiştir.

$$\% \text{ Kurumadde} = \frac{T3-T1}{T2-T1} \quad (3.2)$$

T3 = Kurutmadan sonra örnek ile birlikte petri kabının ağırlığı

T2 = Kurutmadan sonra örnek ile birlikte petri kabının ağırlığı

T1 = Boş petri kabının ağırlığı

Konsistens analizi

Cacık örneklerinin konsistens değerleri Gerber Instruments marka Bostwick (Şekil 3.2) ile kronometre yardımıyla belirlenmiştir. Öncelikle örnekler 20 °C'ye ısıtılmış ve 1500 rpm hızda 1 dakika santrifüj edilmiştir. Ürünün doldurulacağı hazne kıskaç yardımıyla kapatılmıştır. Ardından ürün Bostwick'in haznesine doldurulmuş ve haznenin kapağı açıldığı anda kronometre çalıştırılmıştır. Otuz saniye sonunda ürünün aldığı yol santimetre cinsinden okunmuştur (Supavititpatana ve ark. 2010).



Şekil 3.2. Gerber Instruments marka Bostwick

Mikrobiyolojik analizler

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı

Dokuz farklı cacık ürününden 24 saatte bir toplam aerobik mezofilik bakteri sayımları 21 gün boyunca gerçekleştirilmiştir. Petriyer MPCA agarda 30 °C'de 72 saat inkübe edilmiş ve tüm koloniler değerlendirilmiştir (ISO 4833-1:2013).

Yoğurt ve probiyotik bakteri sayımları

Çalışmada üretilen cacıkların 0, 10 ve 21. günlerinde yoğurt ve probiyotik bakteri sayımları gerçekleştirilerek yasal mevzuata uyum açısından değerlendirilmiştir (Hansen 2005 ve 2002). Kullanılan agar ve inkübasyon koşulları ile ilgili bilgi Çizelge 3.5'de yer almaktadır.

Duyusal analizler

Cacıkların duyuusal analizleri 9 kadın 6 erkekten oluşan 15 eğitimli panelist ile 9 puanlık hedonik skala kullanılarak değerlendirilmiştir (Junaid ve ark. 2013). Örnekler oda sıcaklığına getirilmiş ve her bir gruba ait duyuusal değerlendirmenin yapılması için yaklaşık 10 g numune küçük cam bardaklara aktarılarak servis edilmiştir. Kullanılan duyuusal analiz formu Şekil 3.3’de verilmiştir.

İstatiksel analizler

Araştırmada yoğurt bakterilerini içeren kontrol grup olarak sarımsaklı ve sarımsaksız cacık ve 7 adet farklı kültür kombinasyonları kullanılarak elde edilmiş sarımsaklı cacıkların günlük pH ölçümleri ve mikrobiyolojik analizleri SPSS versiyon 22.0 programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Veri setlerinde öncelikle normallik dağılımlarına bakılmış, normal dağılıma uymayan verilerde non-parametrik test olan Mann-Whitney U testi ile, parametrik koşulları sağlayan veri setleri ise One-Way ANOVA ile Tukey oklu karşılaştırma testi kullanılarak %5 güven aralığında gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığı belirlenmiştir ($p < 0,05$). Duyusal analiz sonuçlarında ise normallik testi yapılmış, bunun sonucunda verilerin sıralı (ordinal) olması ve aynı panel grubu ile çalışılması sebebiyle Wilcoxon Signed Rank Test istatistiksel yöntemi uygulanmıştır (European Sensory Network 2015).

Ürün: Cacık

9 PUANLIK HEDONİK SKALA

Panelist adı:

Tarih:

Lütfen size sunulmuş olan kodlu numuneleri soldan sağa olacak şekilde tadınız. Örnekler arasında geçiş yaparken ağızınızı suyla çalkalayınız ve 30 sn bekleyiniz. Tadım yaptığınız bu dokuz örneği yapı ve tat bakımından değerlendirerek işaretleyiniz. (Her örneğe puan veriniz.)

Ürün kodları:

Yapı



Ürünler	1: Berbat	2: Çok Kötü	3: Kötü	4: Biraz Kötü	5: Ne iyi Ne Kötü	6: Biraz iyi	7: İyi	8: Çok iyi	9: Mükemmel
1.numune									
2.numune									
3.numune									
4.numune									
5.numune									
6.numune									
7.numune									
8.numune									
9.numune									

Tat



Ürünler	1: Berbat	2: Çok Kötü	3: Kötü	4: Biraz Kötü	5: Ne iyi Ne Kötü	6: Biraz iyi	7: İyi	8: Çok iyi	9: Mükemmel
1.numune									
2.numune									
3.numune									
4.numune									
5.numune									
6.numune									
7.numune									
8.numune									
9.numune									

Peki, Hangi ürünü tercih ederdiniz?

Şekil 3.3. Cacık duyusal analiz formu

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

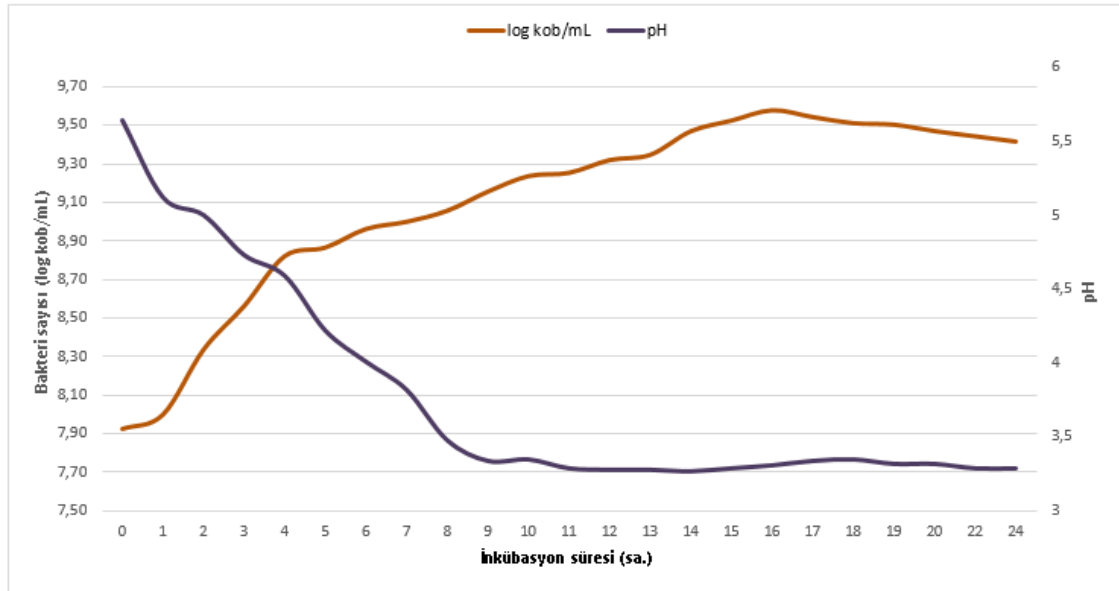
4.1. Çalışmada Kullanılan Bakterilerin Gelişim Eğrileri ve Sarımsağın Bu Bakteriler Üzerindeki Etkisi

4.1.1. Bakteri gelişim eğrilerinin belirlenmesi

Çalışmada kullanılan bakterilerin gelişim eğrileri log kob/mL-zaman grafikleri çizilerek oluşturulmuştur. Aynı grafikte pH değişimi de verilmiştir. Elde edilen grafikler Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’de verilmiştir.

Streptococcus thermophilus gelişim eğrisi

S. thermophilus’un, 2. saat itibariyle logaritmik faza geçtiği 5. saate kadar hızlı gelişim gösterdiği, bakteri sayısının 16. saate kadar devam ettiği görülmüştür. 16. saatten sonra bakteri sayısında azalma tespit edilmiştir. Spesifik gelişme hızı (μ) ve jenerasyon süresi 0,258 sa⁻¹ ve 2,7 sa. olarak belirlenmiştir. *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* kültürleri karışık kültür olmaları sebebiyle birlikte inoküle edilmiş ve başlangıçta 5,64 pH değerinde olan MRS sıvı besiyeri, 24. saatte 3,29 pH değerine ulaşmıştır (Şekil 4.1).

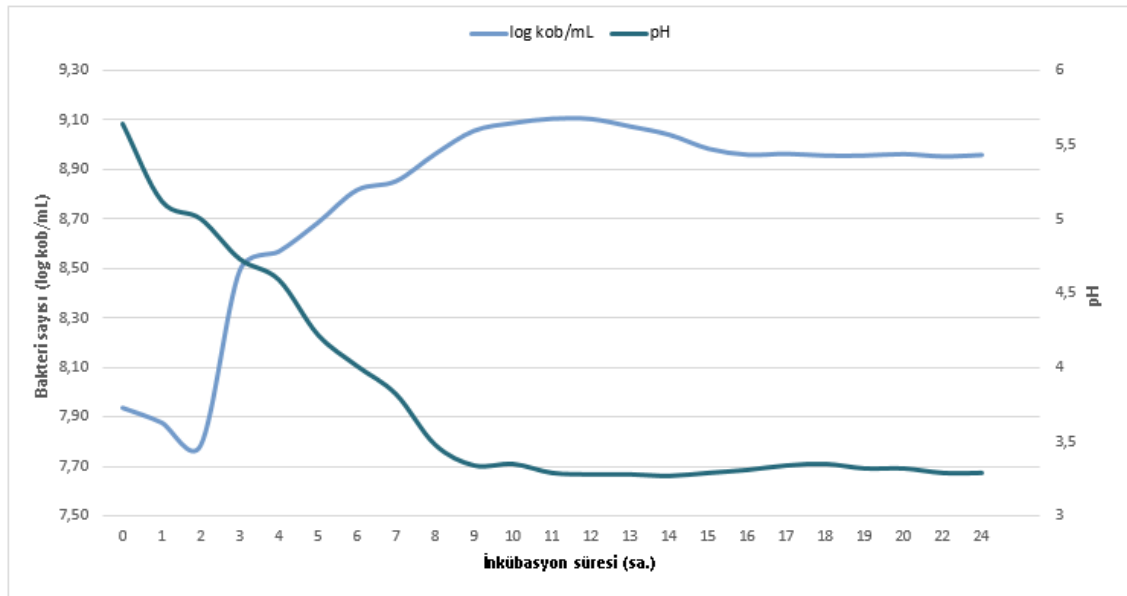


Şekil 4.1. *Streptococcus thermophilus* gelişim eğrisi

Başka bir araştırmada *S. thermophilus*'a ait 4 farklı suş M17 sıvı besiyerinde 43 °C'de aktive edilmiş ve gelişim eğrileri çizilmiştir. Logaritmik fazın 4 suş için 3-5. saatler arasında olduğu ve 5. saatten sonra durağan faza geçtiği tespit edilmiştir. Spesifik gelişme hızı değerlerinin 0,610-0,674 sa⁻¹ arasında ve jenerasyon süresinin ise 1,03-1,13 sa. arasında değiştiği belirlenmiştir (Soydemir 2008). Çalışmada elde edilen spesifik gelişme hızının belirtilen değerlerden daha düşük olması, besiyerinin MRS sıvı besiyeri ve sıcaklığın 37 °C olması ile açıklanabilir.

***Lactobacillus bulgaricus* gelişim eğrisi**

L. bulgaricus'a ait gelişim eğrisinde ilk 2 saatin lag faz, sonraki 6 saatin ise logaritmik faz olduğu, 8-10. saat arasında gelişimin yavaşladığı tespit edilmiştir. Gelişimin 12. saatinden sonra bakteri sayısında azalma görülmüş, 15. saatten sonra durağan faza geçtiği belirlenmiştir. Spesifik gelişme hızının (μ) 0,449 sa⁻¹, jenerasyon süresinin ise 1,5 sa. olduğu hesaplanmıştır. t_0 anında 5,64 olan besiyeri pH değeri, 24 saat sonunda 3,29 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *Lactobacillus bulgaricus* gelişim eğrisi

Soydemir'in (2008) 4 farklı *L. bulgaricus* suşunun MRS sıvı besiyerinde 43 °C'de bakteri gelişim eğrilerini incelediği çalışmada, suşlar arasında spesifik gelişme hızları açısından farklılıklar olduğu ve spesifik gelişme hızının (μ) 0,333 sa⁻¹ ile 0,405 sa⁻¹ arasında değiştiği tespit edilmiştir.

SPY (Soy Peptone Yeast) 10 sıvı besiyerinde 37 °C'de *L. bulgaricus*'un 2 saat lag faz sonrasında logaritmik faza geçtiği ve gelişme hızının (μ) 0,470 sa⁻¹ olduğu belirlenmiştir (Elsayed ve ark. 2014). Yapılan çalışmada MRS sıvı besiyerinde de *L. bulgaricus*'un lag fazının 2 saatte tamamlandığı tespit edilmiştir. Ancak spesifik gelişme hızlarının farklı olmasının besiyeri ve suşların farklı kullanımından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Pak ve ark. (2013) farklı karbonhidrat kaynakları ilave ederek modifiye edilmiş ve standart MRS (glukoz katkılı) sıvı besiyerinde 37 °C'de anaerobik koşullar altında *L. bulgaricus* gelişimini turbidometre ile incelemiş ve standart MRS sıvı besiyerindeki spesifik gelişme hızını 0,250 sa⁻¹ olarak tespit etmişlerdir. Modifiye edilmiş besiyerlerindeki spesifik gelişme hızının ise 0,04 ile 0,18 sa⁻¹ arasında değiştiği ifade edilmiştir.

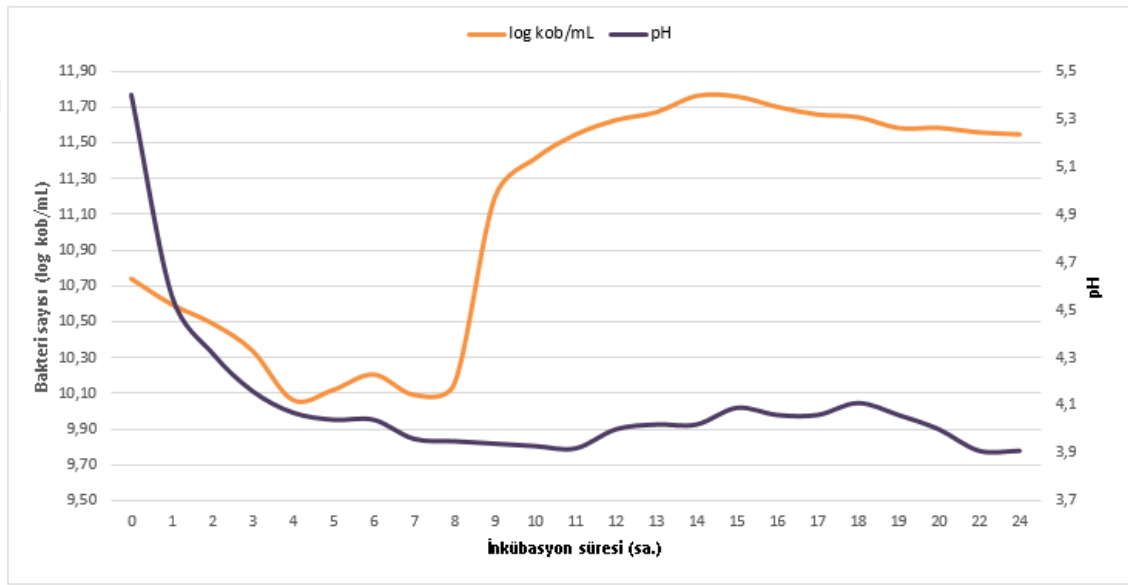
L. bulgaricus gelişim eğrisinin 37 °C'de MRS sıvı besiyerinde optik yoğunluk ile belirlendiği araştırmada spesifik gelişme hızının (μ) 0,014 sa⁻¹ olduğu belirtilmiştir (Meleigy ve Hendawy 2009). Bu değer çalışmada elde edilen 0,449 sa⁻¹ değerinden oldukça düşük olduğu görülmektedir. Aynı sıcaklık ve besiyeri ortamı kullanılmasına rağmen farklı sonuçların alınması, farklı *L. bulgaricus* suşlarının kullanımı ve çalışmada kullanılan kültürün *S. thermophilus* ile birlikte bulunması ile açıklanabilir.

***Lactobacillus acidophilus* gelişim eğrisi**

L. acidophilus 74-2'nin gelişim eğrisinde lag fazın ilk 8 saat sürdüğü, inkübasyonun 9. saatinde logaritmik faza geçtiği 10. saate kadar bu fazın devam ettiği, 10-15. saatleri arasında yavaşlama fazında olduğu ve 15. saat sonrasında durağan faza geçtiği tespit edilmiştir. 0. saatte 5,40 pH da olan MRS sıvı besiyeri 24. saatte 3,91 pH değerine

düşmüştür. Spesifik gelişme hızı $1,45 \text{ sa}^{-1}$ ve jenerasyon süresi $0,48 \text{ sa.}$ olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3).

Sulistijowati ve ark. (2010) yapmış oldukları çalışmada, *L. acidophilus*'un MRS sıvı besiyerinde 2. saatten sonra logaritmik faza geçtiği ve bu fazın inkübasyonun 16. saatine kadar sürdüğü belirlenmiştir. Durağan fazın 16. saat ile 20. saat arasında gerçekleştiği ve ardından ölüm fazına girdiği tespit edilmiştir. Çalışmada da *L. acidophilus*'un aynı saatlerde durağan faza ulaştığı görülmektedir.



Şekil 4.3. *Lactobacillus acidophilus* gelişim eğrisi

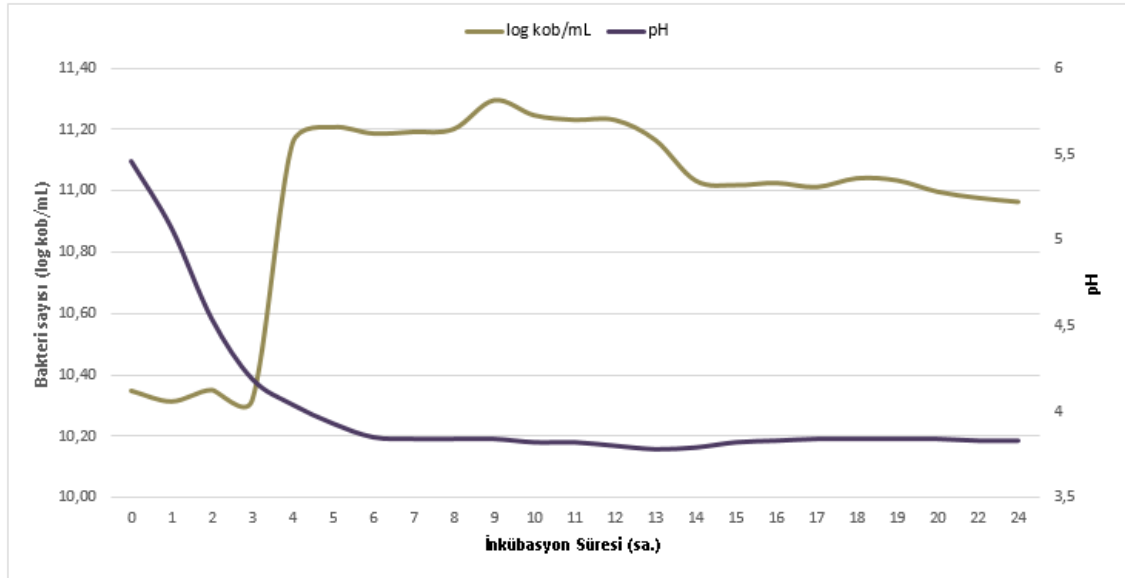
MRS sıvı besiyerinde $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat boyunca 2 saatlik aralıklarla optik yoğunluk ölçümü ile *L. acidophilus* (B/103-1-5) gelişme eğrisi elde edilmiş ve spesifik gelişme hızının $0,493 \text{ sa}^{-1}$ olduğu, jenerasyon süresinin ise $1,4 \text{ sa}$ olduğu belirtilmiştir (Brizuela 2001). Çalışmada kullanılan *L. acidophilus*'un jenerasyon süresinin daha kısa olması, aynı sıcaklık ve besiyerine rağmen değerlerin suş bazında farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Ahn ve ark.'nın (2002) yapmış oldukları bir araştırmada, iki farklı sıcak kanlı hayvanın gastro intestinal sisteminden izole edilmiş *L. acidophilus* suşuna (PF01 ve CF07) ait jenerasyon süreleri farklı sıcaklıklarda MRS sıvı besiyerinde incelenmiş ve $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'deki

jenerasyon süreleri 0,52 ve 0,57 sa olarak belirlenmiştir. İki izole suşun 42 °C'deki gelişiminin 37 °C'deki gelişimden daha hızlı olduğu ve jenerasyon sürelerinin ise 0,44 ve 0,47 sa olduğu tespit edilmiş ancak daha yüksek bir sıcaklık olan 47 °C'de gelişme hızının azaldığı ve jenerasyon sürelerinin 1,46 ve 0,74 sa olduğu belirlenmiştir. Bu verilere göre 47 °C'deki gelişiminin iki suş için belirgin derecede farklı olduğu belirtilmiştir. Farklı *L. acidophilus* suşlarına ait 37 °C'de elde edilen sonuçların, çalışmada elde edilen *L. acidophilus* 74-2 suşu ile elde edilen değerlerle benzer olduğu görülmüştür.

***Lactobacillus rhamnosus* gelişim eğrisi**

L. rhamnosus HN001™ 'a ait elde edilen gelişim eğrisinde ilk 3 saat boyunca lag fazının devam ettiği ardından 3-4. saatler arasında logaritmik faza geçtiği görülmüştür. 4-12 saatleri arasında durağan fazda olan suşun, 13. saat itibarıyla canlı sayısında azalma tespit edilmiştir. Spesifik gelişme hızının $1,94 \text{ sa}^{-1}$ ve jenerasyon süresinin 0,36 sa. olduğu hesaplanmıştır. 5,46 pH'da başlayan MRS sıvı besiyerinin 24. saatte 3,83 pH değerine düştüğü belirlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. *Lactobacillus rhamnosus* gelişim eğrisi

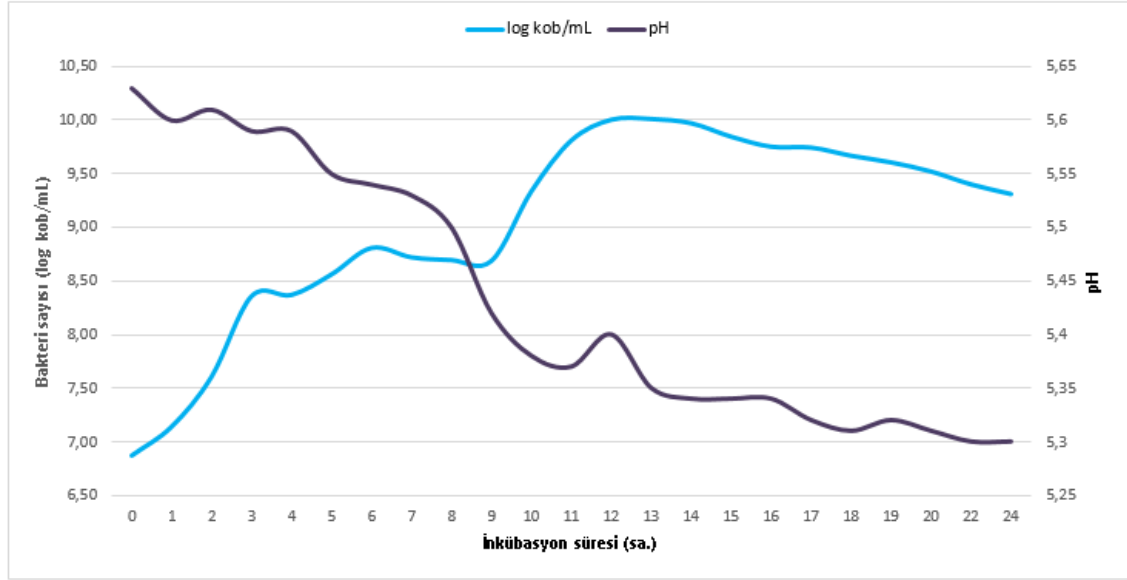
L. rhamnosus GG (ATCC 53103) suşunun sütteki gelişiminin farklı sıcaklıklarda incelendiği bir çalışmada, jenerasyon süresinin 35 °C’de 0,46 sa, 41 °C’de ise 0,35 sa olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada 37 °C’de MRS sıvı besiyerindeki spesifik gelişme hızının 0,82 sa⁻¹ olduğu belirtilmiştir (Liptakova ve ark. 2008). Çalışmada elde edilen sonuçların literatürden farklı olması suşlar arasında değerlerin değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

***Bifidobacterium longum* gelişim eğrisi**

B. longum BB536 suşunun gelişim eğrisinin 1. saatinden itibaren canlı bakteri sayısında artış görülmüş inkübasyonun 3-9. saat arasında 8,3-8,7 log kob/mL canlı bakteri sayısı tespit edilmiştir. Canlı bakteri sayısının 9. saatten sonra tekrar arttığı ve 12. saatte 10 log kob/mL düzeyine ulaştığı ardından tekrar azalmanın başladığı belirlenmiştir. *B. longum* BB536 suşunun spesifik gelişme hızı 0,55 sa⁻¹ ve jenerasyon süresi 1,30 sa. olarak hesaplanmıştır. MRS sıvı besiyerinde pH değişimi incelendiğinde 24 saat inkübasyon süresince dalgalanmalar tespit edilmiş ve başlangıçta 5,63 olan pH değeri inkübasyon sonunda 5,3 ile son bulmuştur (Şekil 4.5). Yoğurt bakterileri ve çalışmada kullanılan diğer probiyotik bakteriler ile kıyaslandığında, *B. longum* BB536 suşunun MRS sıvı besiyerindeki pH değerini en az değiştiren bakteri olduğu tespit edilmiştir. *Bifidobacterium* spp.’nin 4,5 -5,0 pH değerlerinde gelişemediği, optimum gelişme pH’sının 5,5 - 6,5, optimum gelişme sıcaklığının 37 °C olduğu belirtilmektedir (Garro ve ark. 2006, Meena ve ark. 2011) Bu durumda çalışma koşulları *B. longum* gelişimine uygun olarak değerlendirilmektedir. Amaretti ve ark.’nın (2007) *Bifidobacterium adolescentis* MB239 suşunun farklı karbonhidrat kaynakları ile gelişme kinetiğinin incelendiği bir çalışmada, azami biyokütle verimi ve spesifik gelişme hızının 5,5 pH değerinde görüldüğü ancak asit üretiminin bu parametreler ile doğrusal korelasyona sahip olmadığı, aksine fermentatif metabolizmadan organik asit üretiminin en düşük seviyesinin 5,5 pH değerinde olduğu saptanmıştır. Bu araştırma, çalışmada bakteri gelişiminin yüksek olmasına rağmen pH düşmesinin yavaşlığını açıklar niteliktedir.

Yeni doğan bebeklerin fekal örneklerinden, süt ve yoğurttan izole edilen 40 adet *Bifidobacterium* spp. için farklı pH ve sıcaklıktaki gelişimlerin incelendiği çalışmada,

izole edilen bakterilerin %60'ının *B. longum*'a ait olduğu tespit edilmiş ve 37 °C'deki süt içerisindeki gelişimleri değerlendirilmiştir. Logaritmik fazın 2-4 saatler arasında gerçekleştiği ve spesifik gelişme hızının 0,39 sa⁻¹ olduğu belirtilmiştir (Mahmoudi ve ark 2013).



Şekil 4.5. *Bifidobacterium longum* gelişim eğrisi

İçlerinde *B. longum* NCFB (National Collection of Food Bacteria – Ulusal Gıda Bakterileri Koleksiyonu) 2259 suşunun da bulunduğu 7 adet *Bifidobacterium* spp. suşunun gelişimleri üzerine farklı karbon kaynaklarının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, spesifik gelişme hızının 0,10-0,55 sa⁻¹ arasında değiştiği tespit edilmiş, farklı karbon kaynaklarının bakteri gelişimini anlamlı oranda etkilediği belirtilmiştir (Hopkins ve ark. 1998). Farklı karbon kaynaklarının *B. longum* ATCC 15707 üzerine etkisini inceleyen başka bir çalışmada ise spesifik gelişme hızının 0,39-0,80 sa⁻¹ arasında olduğu tespit edilmiştir (Rada ve ark. 2002). Bu çalışmada kullanılan suşa ait spesifik gelişme hızının literatürde belirtilen değerlere yakın olduğu görülmüştür.

4.1.2. Sarımsağın test bakterileri üzerine etkisi

Sarımsağın inhibisyon etkisi, çalışmada kullanılan 5 farklı bakteri suşu için disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiş ve sarımsağın *L. acidophilus* 74-2 dışında tüm

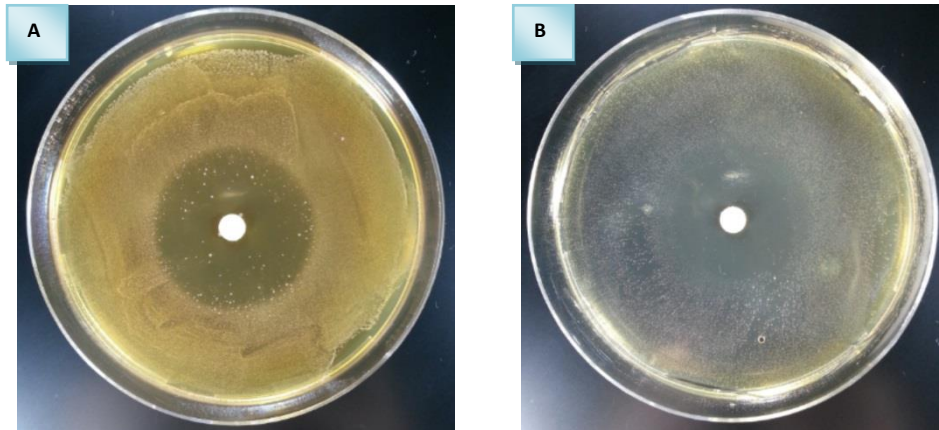
bakteriler üzerinde inhibe edici etkisi olduğu tespit edilmiştir. İnkübasyon sonunda ölçülen zon çapları Çizelge 4.1’de, inkübasyon sonrası çekilen fotoğraflar ise Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Sarımsağın test bakterileri üzerine etkisi

Bakteri	Zon çapı (mm)
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	35,55 ± 0,37
<i>Streptococcus thermophilus</i>	28,16 ± 0,96
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 74-2	-*
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001™	18,81 ± 0,67
<i>Bifidobacterium longum</i> BB536	49,37 ± 0,87

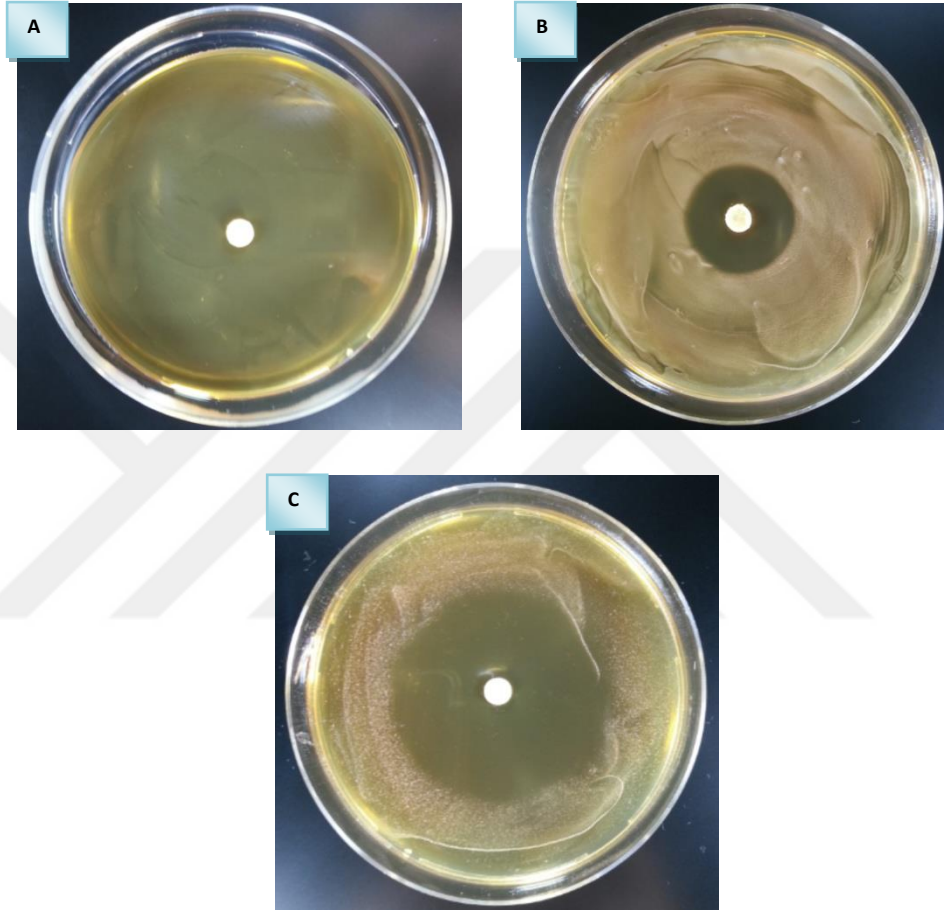
*Zon oluşumu görülmedi

Yapılan çalışmada, *B. longum* BB536’nın sarımsağa en duyarlı bakteri suşu olduğu ve ikinci en duyarlı bakterinin ise *L. bulgaricus* olduğu tespit edilmiştir. *S. thermophilus* 28,16 ± 0,96 mm ile üçüncü sırada yer alırken, sarımsağa en dirençli bakterilerin *L. rhamnosus* HN001™ ve *L. acidophilus* 74-2 olduğu belirlenmiştir. *L. acidophilus* 74-2 10 µL sarımsak ekstraktına karşı zon oluşturmamıştır. Sarımsağın inhibe edici etkisi *L. acidophilus* 74-2 için en azdır. Bu sonuç, raf ömrü boyunca probiyotik gıdadan beklenen en az 10⁶ kob/ml-g kriteri için önemlidir. Farklı baharat ve katkıların probiyotik bakteriler üzerine etkisinin irdelenmesi bu anlamda önemlidir.



Şekil 4.6. Sarımsağın A) *Lactobacillus bulgaricus* ve B) *Streptococcus thermophilus* üzerine inhibisyon etkisi

Sarımsağın bazı patojen mikroorganizmalar üzerine inhibe edici etkisini inceleyen çok sayıda araştırma olmasına rağmen, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* ve probiyotik bakteriler üzerine etkisini inceleyen çalışma sayısının oldukça az olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışma, yoğurt bakterileri üzerine sarımsağın etkisinin disk difüzyon metodu ile incelendiği ilk çalışmalardan biridir.



Şekil 4.7. Sarımsağın A) *Lactobacillus acidophilus* 74-2, B) *Lactobacillus rhamnosus* HN001™ ve C) *Bifidobacterium longum* BB536 üzerine inhibisyon etkisi

S. thermophilus ST-M5 ve *L. bulgaricus* LB-12'nin sarımsak, zencefil, soğan ve zerdaçalın %1 (mL/mL) olarak ilave edilmiş 99 mL steril peptonlu sudaki gelişimlerinin incelendiği bir çalışmada, ilk 36 saatte hiçbir baharatın *S. thermophilus* üzerine etkisinin kontrol grubundan farklı olmadığı tespit edilmiştir. Ancak 48 saatin sonunda zerdaçal hariç diğer tüm baharatların *S. thermophilus* üzerine etkisinin kontrol grubundan farklı olduğu belirtilmiş, sarımsak ilavesinin *S. thermophilus* sayısını arttırdığı ifade edilmiştir. Kontrol grubunda 60 saat sonunda ortalama 3,64 log kob/mL azalma tespit

edilirken, sarımsak ilaveli besiyerinde 2,43 log kob/mL azalma tespit edilmiştir. Aynı çalışma *L. bulgaricus* LB-12 için 8 saatlik gelişim boyunca 2 saatlik periyotlar ile yapılmıştır. 8 saat sonunda kontrol grubu ile sarımsaklı grup arasında farklılık tespit edilemediği bildirilmiştir(Sánchez 2013).

Sarımsağın 5 farklı *Bifidobacterium* spp. ve *L. acidophilus* La14 150B üzerindeki etkisini disk difüzyon yöntemiyle inceleyen bir araştırmada 30 µL sarımsak ekstraktı için *Bifidobacterium* spp. zon çaplarının $13,0 \pm 1,7$ ile $36,7 \pm 1,2$ mm arasında olduğu ve *B. lactis* Bi-07 300B'nin sarımsağa en dirençli, *B. longum* BB536'nın ise daha duyarlı bakteri olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada *B. longum* BB536'nın zon çapının $31,3 \pm 2,3$ mm olduğu belirtilmiştir. *L. acidophilus* La14 150B'nin ise sarımsak ekstraktına karşı zon oluşturmadığı tespit edilmiştir (Booyens ve Thantsha 2013). Bu çalışmada da benzer şekilde *L. acidophilus* 74-2 suşunda zon oluşumu görülmemiştir.

Sarımsağın *L. rhamnosus* LAB101, *L. acidophilus* LAB108 ve *L. casei* Shirota LAB107 üzerine inhibisyon etkisinin agar kuyu difüzyon yöntemi ile belirlendiği çalışmada, 100 µL sarımsak ekstraktının tüm laktik asit bakterileri üzerine etkisinin olduğu belirlenmiştir. Zon çapları *L. rhamnosus* LAB101 için 25 mm, *L. acidophilus* LAB108 için 27 mm ve *L. casei* Shirota LAB107 için 26 mm olarak ölçülmüştür (Taş 2008).

Okaliptüs ve sarımsak ekstraktının *S. mutans* PTCC1683 ve *L. acidophilus* PTCC 1643 üzerine etkisini inceleyen bir araştırmada, her iki bakterinin okaliptus ekstraktına karşı dirençli ancak sarımsak ekstraktına karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Motamayel 2013).

Farklı 37 meyve, sebze ve baharatın 4 farklı ekstraksiyon yöntemiyle elde edilmiş ekstraktlarının patojen ve probiyotik bakteriler üzerine etkisi, patojen mikroorganizmalar için minimum inhibisyon konsantrasyonu, probiyotik bakteriler için ise gelişim eğrisinin kontrol grubu ile birlikte izlenmesiyle belirlendiği bir çalışmada sarımsağın *E. coli* suşları üzerinde güçlü inhibisyon etkisi olduğu, *L. reuteri* ve *L. rhamnosus* üzerine ise gelişimi artırıcı etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Sutherland ve ark. 2009).

4.2. Probiyotik Cacık Üretimi

4.2.1. Probiyotik cacığın fizikokimyasal özellikleri

Kontrol grubuyla birlikte hazırlanan 9 farklı cacığın inkübasyon süreleri, fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Kontrol ve probiyotik cacıkların inkübasyon süreleri, fiziksel ve kimyasal sonuçları

Deneme No	İnkübasyon Süreleri (sa.)	%Yağ	%TKM	%Protein	Konsistens (cm)
N1	4,33 ± 0,04	2,17 ± 0,01	14,95 ± 0,02	4,09 ± 0,01	8,33 ± 0,02
N2(kontrol)	4,00 ± 0,00	2,15 ± 0,01	14,74 ± 0,01	4,06 ± 0,01	8,50 ± 0,00
N3	4,50 ± 0,00	2,16 ± 0,00	14,72 ± 0,02	4,05 ± 0,01	8,83 ± 0,02
N4	4,22 ± 0,04	2,13 ± 0,01	14,63 ± 0,01	4,01 ± 0,01	9,67 ± 0,02
N5	5,25 ± 0,00	2,12 ± 0,00	14,99 ± 0,01	4,11 ± 0,00	8,83 ± 0,02
N6	5,00 ± 0,00	2,11 ± 0,01	14,58 ± 0,02	4,09 ± 0,01	9,50 ± 0,00
N7	5,22 ± 0,04	2,10 ± 0,00	14,75 ± 0,02	4,09 ± 0,01	9,00 ± 0,00
N8	5,00 ± 0,00	2,13 ± 0,01	14,77 ± 0,01	4,10 ± 0,00	8,17 ± 0,02
N9	3,81 ± 0,04	2,17 ± 0,01	14,48 ± 0,01	4,12 ± 0,01	9,33 ± 0,02

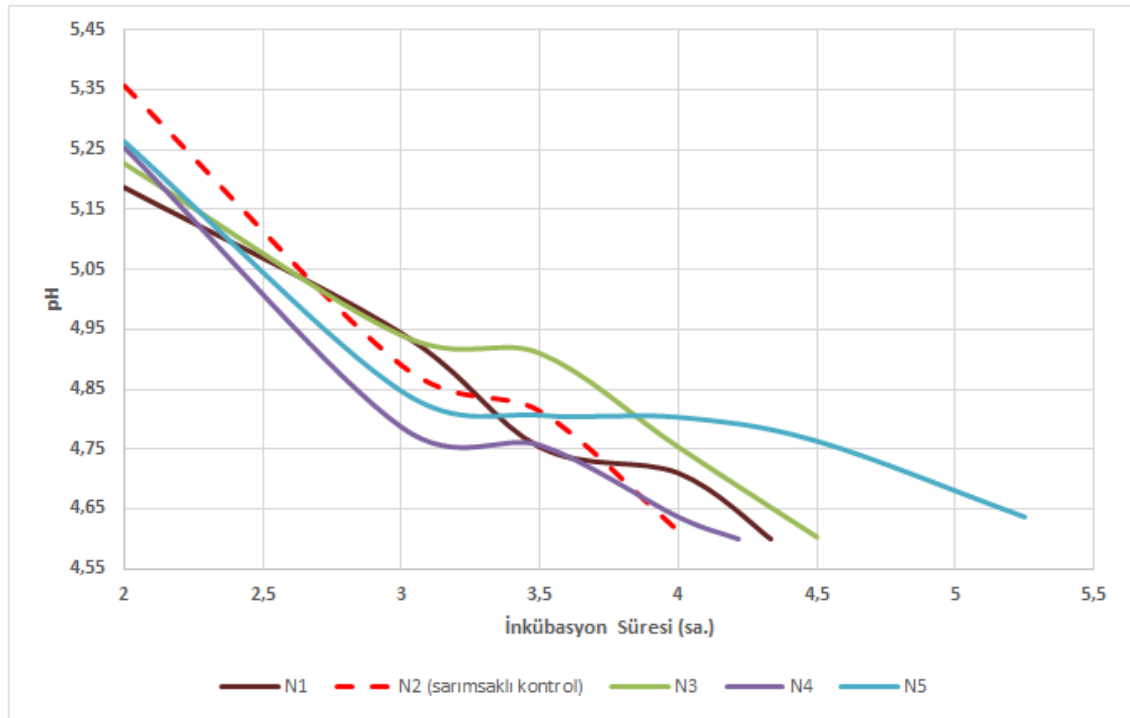
TKM: Toplam kurumadde

N1 nolu deneme, yoğurt bakterilerinin bulunduğu ve sarımsağın eklenmediği cacık denemesidir. N2 ise aynı bakteri kombinasyonuna sahip sarımsaklı cacık olup kontrol grup olarak değerlendirilmiştir. N2 nolu deneme inkübasyonun 2. saatinde tüm gruplardan daha yüksek pH değerine sahip olmasına rağmen devam eden inkübasyon süresince en hızlı pH düşüşü görülen gruptur. N2 (sarımsaklı) nolu deneme N1 (sarımsaksız) nolu denemeden 20 dakika önce inkübasyon sonu pH değerine ulaşmıştır.

Sánchez'in (2013) %1 (v/v) sarımsağın yoğurt bakterileri üzerine etkisini belirlediği çalışmada, 12 saatlik periyotlarla *S. thermophilus* ST M-5, 2 saatlik periyotlarla ise *L. bulgaricus* LB-12'nin gelişimi incelenmiştir. *S. thermophilus*'un ilk 12 saatlik periyotta kontrol grubundan farklı olmadığı, sarımsağın uygulandığı *L. bulgaricus*'un 4. saatte 10,05 log kob/mL değerine sahip iken kontrol grubunda 9,72 log kob/mL olduğu tespit edilmiştir.

N4 nolu grup (*L. acidophilus*) inkübasyon sonunda pH değerine diğer tekli probiyotik katkılı cacık gruplarından daha erken, kontrol grubundan ise 15 dakika daha geç, ortalama 4,22 saatte ulaşmıştır. *L. acidophilus*'un da içlerinde bulunduğu 3 farklı probiyotik bakteri ile 7 farklı yoğurdun üretildiği başka bir çalışmada, probiyotik bakterilerin yoğurtlardaki pH, titre edilebilir asitlik, yapı, renk ve su salma cinsinden etkisi araştırılmıştır. Standart yoğurt bakterileri ile *L. acidophilus* içeren grupta fermentasyon süresinin, standart yoğurt bakterilerini içeren kontrol grubundan daha kısa olduğu tespit edilmiştir. *L. acidophilus* içeren grubun pH değeri 6,5 saat sonra 4,5'e ulaşırken, kontrol grubun aynı pH değerine 7 saatte ulaştığı tespit edilmiştir (Mani-López ve ark. 2014).

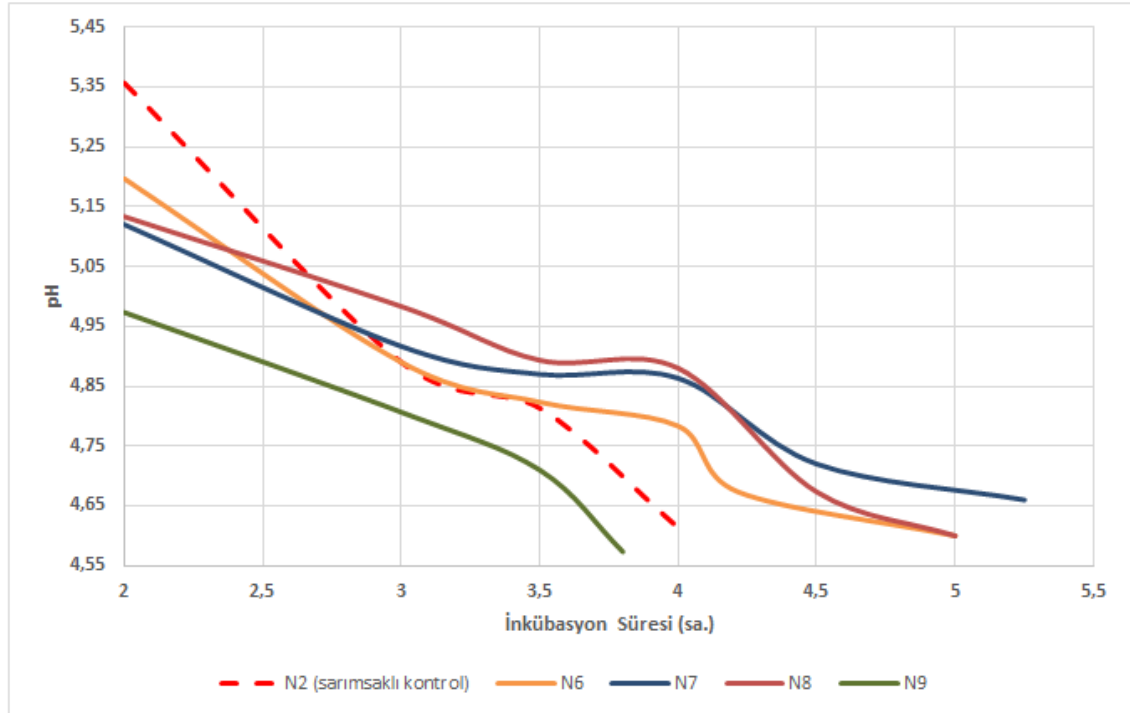
N3 nolu grup (*B. longum*) 4,50 saat, N5 nolu grup ise (*L. rhamnosus*) 5,25 saatte inkübasyon sonu pH değerine ulaşmıştır (Şekil4.8). Bu durumda *L. acidophilus* varlığının pH gelişimi üzerine etkisinin diğer probiyotik bakterilerden daha fazla olduğu düşünülebilir.



Şekil 4.8. İnkübasyon süresince pH izlemesi (N1,N2,N3,N4,N5)

Yılmaz ve Kural (2014) tarafından gerçekleştirilen ve farklı probiyotik bakteriler ile hazırlanan yoğurtların inkübasyon sürelerinin değerlendirildiği çalışmada, standart yoğurt bakterileri ile hazırlanan yoğurdun 3 saatte 4,6 pH değerine ulaştığı, *S. thermophilus*, *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp.'nin birlikte bulunduğu yoğurttaki inkübasyon süresinin 5,5 saat olduğu belirtilmiştir. Bu içeriğe *L. lactis* ilave edildiğinde ise inkübasyon süresinin uzadığı ve 7 saati bulduğu ifade edilmiştir.

N6, N7 ve N8 kod numaralı denemeler, yoğurt bakterileri ile birlikte ikili probiyotik kombinasyonlarının bulunduğu cacık gruplarıdır. N6 (*L. acidophilus* ve *B. longum*) ve N8 (*L. acidophilus* ve *L. rhamnosus*) grupları aynı sürede inkübasyon sonu pH değerine, N7 (*L. rhamnosus* ve *B. longum*) nolu gruptan 15 dakika önce ulaşmıştır (Şekil 4.9). Bu durum *L. acidophilus* varlığının tekli probiyotik kombinasyonlarını içeren gruplarda alınan sonuç gibi asitlik gelişimi üzerinde etkili olduğu kanısını desteklemektedir. Eskandari ve ark.'nın (2012) yaptığı çalışmada yoğurt bakterilerine ilave olarak *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp.'nin birlikte bulunduğu yoğurt ürününde inkübasyon sonu pH (4,50) değerine 6,75 saatte ulaşmıştır. Çalışmada ise aynı probiyotik içeriğine sahip cacığın 4,6 pH değerine ulaşması 5 saat sürmüştür.



Şekil 4.9. İnkübasyon süresince pH izlemesi (N2,N6,N7,N8,N9)

Yoğurt ve farklı probiyotik bakterilerin birlikte kullanıldığı başka bir çalışmada, *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus*'un birlikte bulunduğu yoğurt örneğinde 4,52 saat sonunda inkübasyon sonu olan 4,5 pH değerine ulaştığı tespit edilmiştir (Saccaro ve ark. 2009). Çalışmada aynı probiyotik bakteri içeriğine sahip cacığın inkübasyon süresi ise 5 saat olarak belirlenmiştir.

Çalışmada *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *B. longum* suşlarını içeren N9 nolu deneme, 4,6 pH değerine en erken ulaşan grup olma özelliğini göstermiş ve kontrol grubundan 10 dakika önce inkübasyon sonu pH değerine ulaşmıştır.

Bu çalışmada cacıkların yağ değerlerinin %2,10-2,18 arasında, toplam kurumadde değerlerinin %14,47-15,00 arasında, protein değerlerinin %4,00-4,13 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Üç büyük firmadan ve 7 farklı küçük işletmeden alınan cacıkların protein yağ ve kurumadde değerlerinin incelendiği başka bir çalışmada, kuru maddenin %16,45-20,76 arasında, yağ değerlerinin %1,45-4,30 arasında, protein değerlerinin ise %8,14-13,87 arasında değiştiği belirlenmiştir (Küçüköner ve ark. 2006). Yapılan çalışmada elde edilen sonuçların farklı proses koşulları nedeniyle gerçekleştiği düşünülmektedir. Yoğurt üretiminde kurumadde içeriğini arttırmak amacıyla, evaporatör ile suyu uzaklaştırma ya da süttozu ilavesi gibi işlemler yapılabilmektedir. Bu proseslerin son ürünün kimyasal değerleri üzerine etkisi oldukça büyüktür.

Starter bakteri suşları ile probiyotik bakteri suşları arasında birbirini uyarıcı, gelişimi geciktirici, gelişimi tamamen durdurucu ya da hiçbir etkinin olmadığı etkileşim biçimleri olarak 4 farklı etkileşim biçimi tanımlanmıştır (Vinderola ve ark. 2002). İnkübasyon süresince pH gelişimindeki farklılıkların tüm bu etkileşimler ile doğrudan ilişkili olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Raf ömrü boyunca 1, 10 ve 21. günlerde yapılan starter ve probiyotik bakteri sayım sonuçları ile birlikte bu bakteriler üzerindeki olası etkileşimler referans çalışmaları ile birlikte sunulmuştur.

4.2.2. Raf ömrü sürecinde pH gelişimi

Raf ömrü sürecindeki pH gelişimi takip edilmiş ve sonuçlar Şekil 4.10 ve Şekil.4.11’de kontrol grubu ile birlikte verilmiştir. Raf ömrünün 1, 10 ve 21. günlerinde elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çalışmada N1 (sarımsaksız), sadece N2 nolu grup ile kıyaslanmıştır. Probiyotik bakteri ilave edilen grupların içeriğinde sarımsak olması sebebiyle N3, N4, N5, N6, N7, N8 ve N9 nolu gruplar N1 nolu grup ile kıyaslanmamıştır. N2 nolu deneme, probiyotik bakteri ilavesiyle elde edilen ürünlerin kontrol numunesi olarak değerlendirilmiştir.

N1 ve N2 nolu grup kıyaslandığında, sarımsak varlığının 1 ve 10. günlerde $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı olduğu ve sarımsaksız cacıkta asitlik gelişiminin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ancak cacıkların 21. günlerinde sarımsaklı cacık ile sarımsaksız cacık arasında raf ömrü sonu pH değeri açısından farklılık olmadığı belirlenmiştir. Standart yoğurt bakterilerinin kullanıldığı bir çalışmada 21 günlük raf ömrü sonunda pH değerinin $4,03 \pm 0,01$ olduğu tespit edilmiştir (Damin ve ark. 2008). Bu çalışmada da 21 günlük raf ömrü sonunda benzer sonuç alınmıştır.

Çizelge 4.3. Kontrol ve probiyotik cacıkların 1, 10 ve 21. gün pH sonuçları

Deneme No	1. gün pH*	10. gün pH**	21. gün pH**	Raf ömrü sonunda pH düşüşü
N1	$4.50 \pm 0,02^a$	$4.10 \pm 0,00^a$	$4.00 \pm 0,02^a$	$0,50 \pm 0,00$
N2 (kontrol)	$4,57 \pm 0,01^b$	$4.18 \pm 0,01^b$	$4.01 \pm 0,01^{ab}$	$0,56 \pm 0,00$
N3	$4,54 \pm 0,01^{bc}$	$4.11 \pm 0,01^{bc}$	$4.03 \pm 0,01^b$	$0,51 \pm 0,00$
N4	$4,52 \pm 0,01^{cd}$	$4.08 \pm 0,01^{bd}$	$4.00 \pm 0,01^b$	$0,52 \pm 0,00$
N5	$4,56 \pm 0,00^{bde}$	$4.07 \pm 0,02^{cd}$	$4.06 \pm 0,01^b$	$0,50 \pm 0,01$
N6	$4,59 \pm 0,01^b$	$4.21 \pm 0,02^{bc}$	$4.18 \pm 0,02^c$	$0,41 \pm 0,01$
N7	$4,52 \pm 0,01^{cef}$	$4.15 \pm 0,00^e$	$4.01 \pm 0,01^b$	$0,51 \pm 0,00$
N8	$4,55 \pm 0,01^{bdf}$	$4.08 \pm 0,01^{cd}$	$3,97 \pm 0,01^b$	$0,58 \pm 0,00$
N9	$4,47 \pm 0,01^g$	$4.07 \pm 0,01^d$	$3,90 \pm 0,00^d$	$0,57 \pm 0,01$

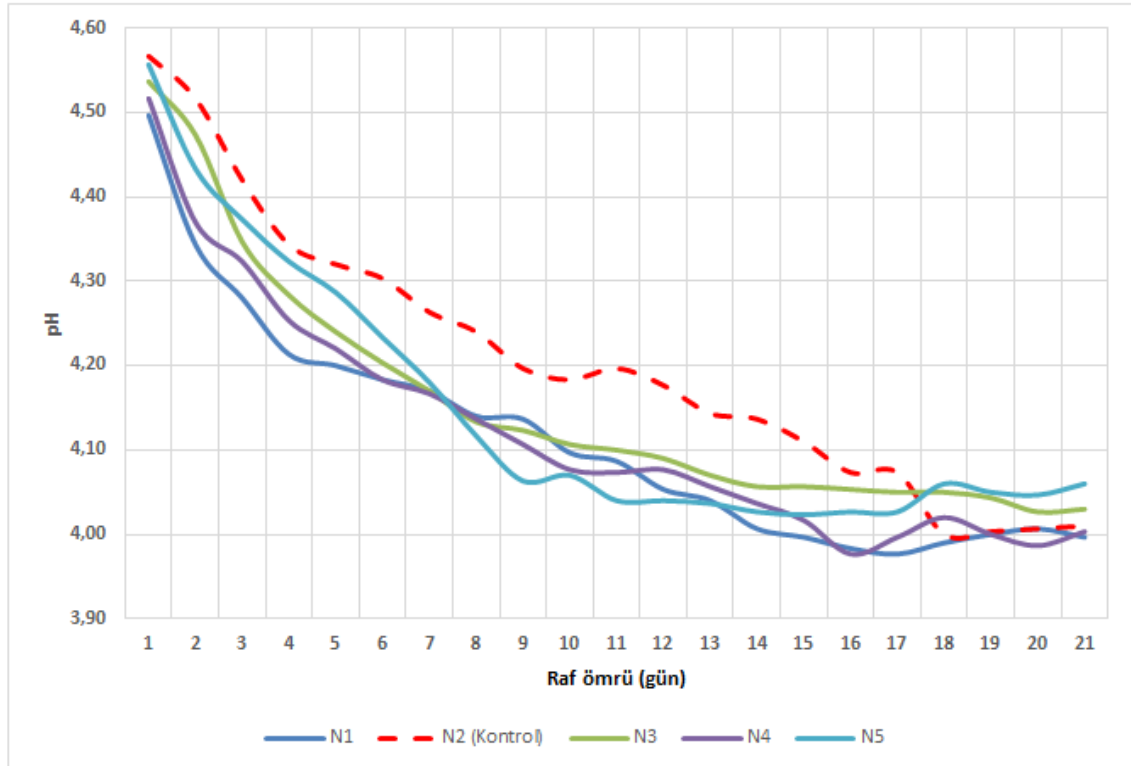
*Kolmogorov-Smirnov test sonucuna göre parametrik bir test olan ANOVA-Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

**Kolmogorov-Smirnov test sonucuna göre parametrik olmayan test olan Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Farklı harfler istatistiki olarak farklılığı göstermektedir ($p < 0,05$).

Tekli probiyotik kombinasyonlarını içeren gruplar ile kontrol grubu kıyaslandığında N3 nolu grup (*B. longum*) ile kontrol grubu arasında 0, 10 ve 21.günlerde bir farklılık olmadığı tespit edilmiş, *B. longum* varlığı asitliği arttırıcı yönde etki etmemiştir. N4 nolu grubun (*L. acidophilus*) ise 1. günde kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı olduğu ve *L. acidophilus* varlığının asitlik gelişimini arttırdığı tespit edilmiştir. Benzer sonuç inkübasyon süresince de alınmıştır. Ancak raf ömrünün 10 ve 21. günlerinde kontrol grubu ile benzer pH değerlerine ulaşmıştır. Bu durum *L. acidophilus* sayısının raf ömrü süresince azalması ile açıklanabilir.

Standart yoğurt bakterileri ile *L. acidophilus* eklenerek elde edilen yoğurtların farklı sıcaklık ve inkübasyon sonu pH değerlerinin, yoğurtların fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, 42 °C’de inkübe edilen ve inkübasyon sonunda pH’sı 4,60 olan yoğurtların 15. günde 4,11, 30. günde ise 4,09 pH değerine ulaştığı tespit edilmiştir (Çomak 2010).

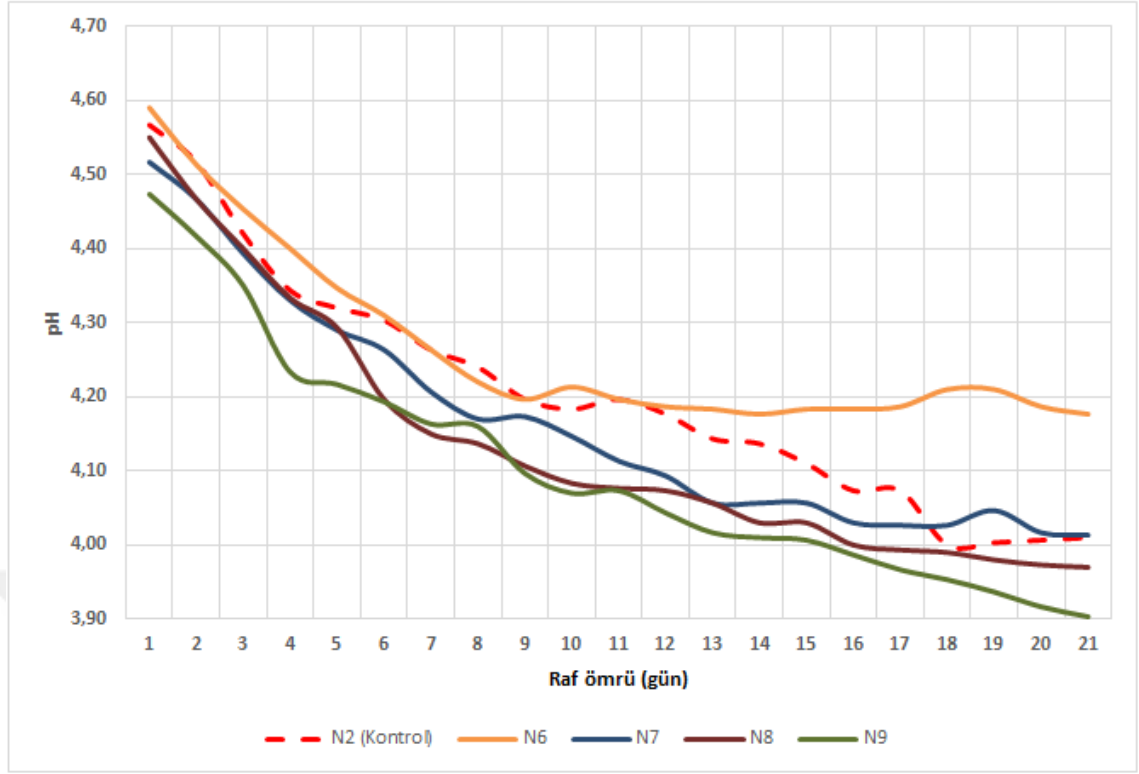


Şekil 4.10. Raf ömrü sürecinde pH izlemesi (N1, N2, N3, N4, N5)

N5 nolu denemede (*L. rhamnosus*) başlangıçta kontrol grubu ile anlamlı farklılık görülmezken, 10. günde pH değerinin kontrol grubuna göre ciddi oranda düştüğü ve sonrasında pH değerinin 21. gün sonuna kadar sabit kaldığı tespit edilmiştir. Tekli probiyotik gruplar kendi aralarında kıyaslandığında ise 1, 10 ve 21. günlerinde farklılık tespit edilmemiştir.

İkili probiyotik bakterilerle olan kombinasyonlar, kontrol grubu ile kıyaslandığında N6 (*L. acidophilus* ve *B. longum*) ve N8 (*L. acidophilus* ve *L. rhamnosus*) nolu grup arasında 1. gün farklılık tespit edilmemiş ancak N7 (*L. rhamnosus* ve *B. longum*) nolu grup ile $p < 0,05$ anlamlı düzeyde farklılık belirlenmiştir. *L. rhamnosus* ve *B. longum*'un birlikte bulunmaları ile pH değeri 4,52 değerine düşerken, kontrol grubunda pH değeri 4,57 olarak tespit edilmiştir. 10. günde kontrol grubu ile N6 (*L. acidophilus* ve *B. longum*) nolu grup hala benzer pH değerlerine sahipken, N8 (*L. acidophilus* ve *L. rhamnosus*) nolu grupta pH değeri dramatik olarak düşmüş ve kontrol grubundan farklı olduğu tespit edilmiştir. Ancak 21. gün pH'ları kıyaslandığında N7 (*L. rhamnosus* ve *B. longum*) ve N8 (*L. acidophilus* ve *L. rhamnosus*) nolu grupların kontrol grubu ile benzer pH değerlerine ulaştığı, N6 (*L. acidophilus* ve *B. longum*) nolu grubun diğer tüm gruplardan daha yüksek pH (4,18) değerinde raf ömrünü tamamladığı tespit edilmiştir.

Standart yoğurt ve farklı probiyotik bakterilerin birlikte oldukları çalışmada, *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus*'un birlikte bulunduğu yoğurt örneğinde, 14 günlük raf ömrü boyunca pH'da 0,22 birim azalma olduğu ifade edilmiştir (Saccaro ve ark. 2009). Çalışmada aynı probiyotik içeriğine sahip cacığın 14. günde başlangıç pH değerinden 0,50 birim azalma olduğu belirlenmiştir. Bu durum aynı tür probiyotik mikroorganizmalara ait farklı suşların asitlik gelişimlerinin farklı olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.11. Raf ömrü sürecinde pH izlemesi (N2, N6, N7, N8, N9)

Üç probiyotik bakteriyi içeren N9 nolu denemenin 1 ve 21. gün sonuçları değerlendirildiğinde kontrol ve diğer tüm gruplar arasında $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farklı olduğu ve raf ömrü sonunda diğer tüm denemelerden daha düşük olan 3,90 pH değerine ulaştığı tespit edilmiştir.

4.2.3. Raf ömrü sürecinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı

Raf ömrü sürecinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı sonuçları kontrol grubu ile birlikte Şekil 4.12 ve Şekil 4.13’de verilmiştir. Raf ömrünün 1, 10 ve 21. günlerinde elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.4’de sunulmuştur.

Raf ömrünün 1. günlerinde N1 (sarımsaksız) nolu deneme ile N2 (sarımsaklı) nolu grupların birbirlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu, N2’nin toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının belirgin olarak daha az olduğu tespit edilmiştir. Ancak ilerleyen süreçte iki grup arasındaki fark azalmış ve 10 ve 21. günlerinde istatistiksel

fark tespit edilmemiştir. Küçüköner ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, üç büyük ve 7 küçük işletmeden alınan cacık örneklerinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının 30 günlük raf ömrü süresince 2,63-4,82 log kob/g arasında değiştiği tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada %0,5 ve %1 oranında sarımsak içeren yoğurtların 28 günlük raf ömrü boyunca toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 7,90-8,01 log kob/g aralığında belirlenmiştir (Gündoğdu ve ark. 2009). Van'da bulunan 14 kahvaltı salonundan toplanan 50 adet cacık örneğinin mikrobiyolojik değerlendirilmesinin yapıldığı bir çalışmada, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının 6,30-8,40 log kob/g arasında değiştiği tespit edilmiştir (Güneş ve Sancak 2014). Çalışmada ise kontrol cacık numunesinde deneme süreci boyunca 8,10-8,72 log kob/g arasında toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçların literatürde belirtilen değerlere yakın olduğu görülmüştür.

Başlangıçta N2 nolu grubun, [N4 (*L. acidophilus*) ve N9 (*L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *B. longum*) no hariç] diğer tüm denemelerden $p < 0,05$ düzeyinde farklı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Kontrol ve probiyotik cacıkların 1, 10 ve 21. gün toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı (TAMBS) sonuçları (log kob/g)

Deneme No	1. gün TAMBS*	10. gün TAMBS**	21. gün TAMBS**
N1	8,91 ± 0,02 ^a	8,62 ± 0,02 ^a	8,34 ± 0,07 ^a
N2 (kontrol)	8,72 ± 0,01 ^b	8,52 ± 0,05 ^{ab}	8,10 ± 0,06 ^{ab}
N3	8,92 ± 0,01 ^c	8,68 ± 0,02 ^b	8,49 ± 0,02 ^b
N4	8,80 ± 0,02 ^b	8,73 ± 0,01 ^b	8,36 ± 0,04 ^b
N5	8,51 ± 0,02 ^d	9,01 ± 0,02 ^b	8,93 ± 0,01 ^b
N6	8,47 ± 0,05 ^d	8,94 ± 0,02 ^b	8,88 ± 0,02 ^b
N7	8,61 ± 0,03 ^e	9,04 ± 0,06 ^b	8,91 ± 0,03 ^b
N8	8,48 ± 0,03 ^d	9,05 ± 0,05 ^b	8,85 ± 0,01 ^b
N9	8,73 ± 0,03 ^b	8,68 ± 0,04 ^b	8,45 ± 0,02 ^b

*Kolmogorov-Smirnov test sonucuna göre parametrik bir test olan ANOVA-Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

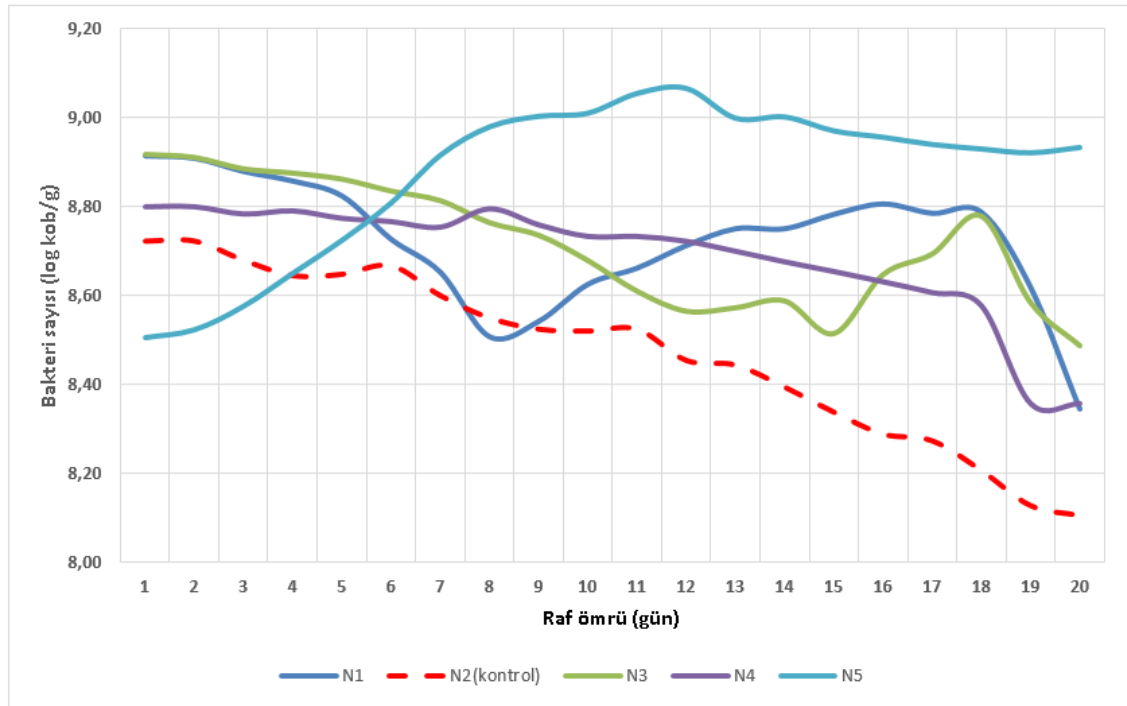
**Kolmogorov-Smirnov test sonucuna göre parametrik olmayan test olan Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Farklı harfler istatistiki olarak farklılığı göstermektedir ($p \leq 0,05$).

N1 nolu deneme sadece N2 nolu deneme ile kıyaslanmıştır.

N3 (*B. longum*) denemesinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı başlangıçta ortalama 8,92 log kob/mL olarak tespit edilmiş, diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak farklı olduğu ve probiyotik ilave edilmiş tüm kombinasyonlardan daha yüksek sayıda toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı içerdiği belirlenmiştir. Tekli probiyotik içeren kombinasyonların birbirleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Bu durum probiyotik varlığının toplam aerobik mezofilik bakteri sayısında etkili olduğu şeklinde yorumlanabilir.

İkili probiyotik içeriğe sahip gruplar (N6, N7 ve N8) birbirleriyle kıyaslandığında başlangıçta N7 (*L. rhamnosus* ve *B. longum*) nolu grubun diğer iki gruptan daha yüksek toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı içerdiği ancak bu farkın 10 ve 21. günde yok olduğu belirlenmiştir.



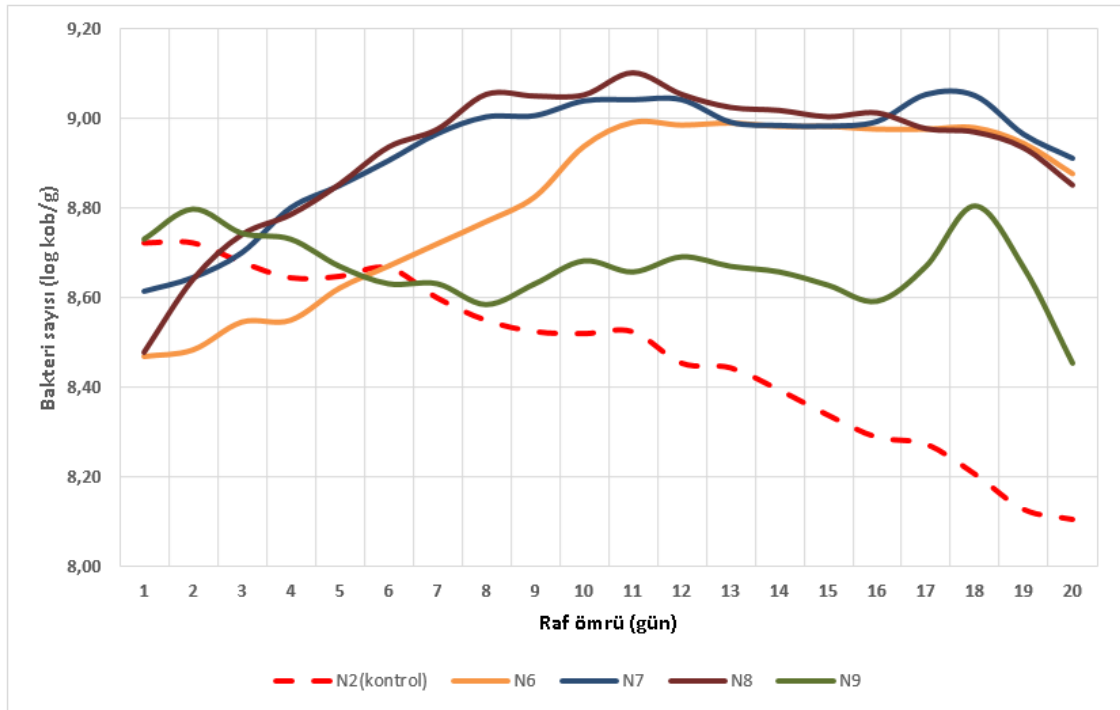
Şekil 4.12. Raf ömrü sürecinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı (N1,N2,N3,N4,N5)

Üçlü probiyotik içeren grup (N9) 0,10 ve 21. günlerde kontrol grubu ile benzer toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı içermektedir. N9 kodlu deneme ikili probiyotik

gruplardan başlangıçta daha yüksek değere sahipken, 10 ve 21. günde benzer sayılara ulaşmıştır.

Raf ömrü boyunca kontrol grubunda toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı sürekli azalmış ve raf ömrü sonunda gruplar arasında en düşük değere ulaşmıştır. N5, N6, N7 ve N8 nolu gruplarda raf ömrü boyunca sayı artmış diğer gruplarda ise azalma göstermiştir (Çizelge 4.13).

Yoğurt ve probiyotik kültürlerle üretilmiş muzlu yoğurtların raf ömrü boyunca toplam aerobik mezofilik bakteri sayımları yapılmış, *L. acidophilus* içeren yoğurt örneğinde sayının 14 gün boyunca arttığı tespit edilmiştir. Ancak *Bifidobacterium bifidum* içeren muzlu yoğurtta toplam canlı sayısı raf ömrü boyunca sabit kalmıştır (Çakmakçı ve ark. 2012). Bu çalışma ile yapılan deneme sonucunda farklı probiyotik bakterilerin toplam aerobik mezofilik bakteri sayısını farklı etkilediği gözlenmektedir.



Şekil 4.13. Raf ömrü sürecinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı (N2,N6,N7,N8,N9)

4.2.4. Starter ve probiyotik bakteri sayımları

Sağlık üzerine birçok etkisi bulunan probiyotik bakterilerin bu etkileri gösterebilmeleri için vücuda alındığında en az 10^6 canlı sayısı içermeleri gerekmektedir. Ancak yapılan çalışmalar, raf ömrü sonuna kadar probiyotik ürünlerin oldukça düşük sayıda probiyotik mikroorganizma içerdiğini göstermektedir (Mohammadi ve ark. 2012, Gürsoy ve ark. 2014, Michael ve ark. 2015). Probiyotik mikroorganizmaların fermente süt ürünlerinde canlılığını; laktik asit, asetik asit konsantrasyonu, pH, hidrojen peroksit, çözülmüş oksijen konsantrasyonu, depolama sıcaklığı, gıda matriksi, gıda içeriğindeki yağ protein karbonhidrat konsantrasyonu, superoksit anyonları ve hidroksi radikaller gibi toksik bileşenlerin birikimi etkilemektedir ve bu etkiler suştan suşa farklılık göstermektedir (Talwalkar ve Kailasapathy 2004, Ng ve ark. 2011, Jayalalitha ve ark. 2011, Gustaw ve ark. 2011, Klu ve ark. 2012, Shori 2015).

Endüstriyel olarak probiyotik mikroorganizmaların fermentasyon yeteneklerinin zayıf olması nedeniyle starter kültürler (*S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*) ile birlikte kullanımı tercih edilmektedir. Ayrıca probiyotik mikroorganizmalar tek başlarına kullanıldıklarında arzu edilmeyen tat ve koku gelişimi olduğu belirtilmiştir (Champagne ve ark. 2009, Mohammadi ve ark. 2012). Yoğurt bakterilerinin simbiyotik ilişkisi detaylı olarak bilinmesine rağmen probiyotik bakterilerin yoğurt bakterileri ile ya da diğer probiyotik bakteriler ile ilişkisini açıklayan çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (Li ve ark. 2012).

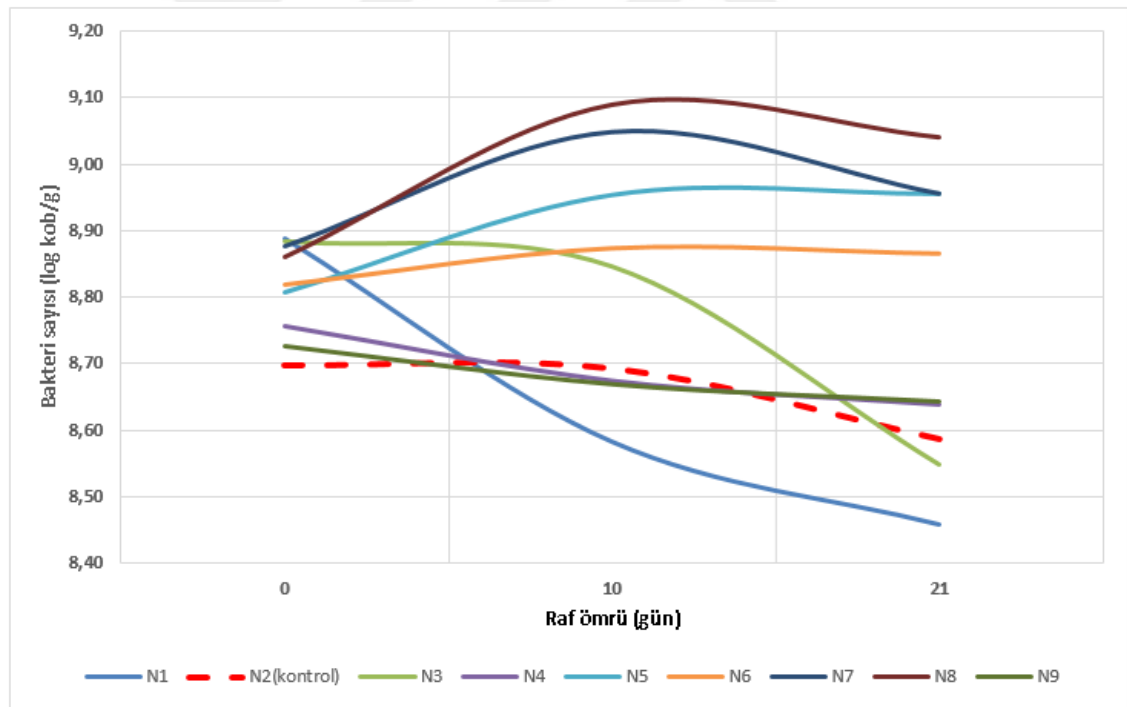
Cacıkların starter ve probiyotik bakteri sayımları raf ömrünün 0, 10 ve 21.günlerinde yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.14, Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17, Şekil 4.18'de ve Çizelge 4.5, Çizelge 4.6, Çizelge 4.7, Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9'da verilmiştir.

***Streptococcus thermophilus* sayısı**

Çalışmada raf ömrü başlangıcında *S. thermophilus* sayısında gruplar arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmezken, 10 ve 21. günlerde gruplar arasında $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Raf ömrünün 10 ve 21.

günlerinde N1(sarımsaksız) ve N2 (sarımsaklı-kontrol) nolu gruplar arasında istatistiksel olarak fark olmadığı ve %0,02 oranında sarımsak katkısının *S. thermophilus* gelişimi üzerinde olumsuz etkisinin olmadığı söylenebilir (Çizelge 4.5). %0,5 ve %1 oranında sarımsak ilave edilmiş yoğurtların *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* sayılarının kontrol ile karşılaştırıldığı çalışmada, her iki bakterinin sayısında kontrol grubu ile istatistiksel olarak fark tespit edilmemiş ve bu oranda ilave edilen sarımsağın yoğurt bakterileri üzerinde olumsuz etkisi olmadığı ifade edilmiştir (Gündoğdu ve ark. 2009).

Sarımsak, soğan ve zeytin ekstraktlarından hazırlanmış karışımının yoğurt bakterileri, *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* üzerindeki etkisini araştıran çalışmada, yoğurt örneklerine %0,5 oranında ilave edilen karışımın *S. thermophilus* ve *B. animalis* gelişimi üzerine olumsuz etkisinin bulunmadığı, *L. bulgaricus* ve *L. acidophilus* gelişimini ise desteklediği belirtilmiştir (Michael ve ark. 2015).



Şekil 4.14. Raf ömrü sürecinde *Streptococcus thermophilus* sayımı

N2 (kontrol) nolu grup ile N4 (*L. acidophilus*) nolu grup arasında 10 ve 21. günlerde *S. thermophilus* sayısı bakımından istatistiksel farkın olmaması, *L. acidophilus* varlığının

S. thermophilus üzerinde inhibe edici etkisinin olmadığını göstermektedir. Sekiz adet *L. acidophilus* izolatının 7 adet *S. thermophilus* izolatı üzerindeki etkisini inceleyen araştırmada, tüm *L. acidophilus* suşlarının 4 farklı *S. thermophilus* suşu üzerinde inhibe edici etkisinin bulunduğu, zon çaplarının suşlara göre değiştiği ve kalan 3 suşta bu etkinin görülmediği belirtilmiştir. Bu etkinin *L. acidophilus*'un ürettiği organik asit nedeniyle ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Dave 1998). Bu çalışma inhibisyonun suş bazında farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Yapılan çalışmada kullanılan *L. acidophilus* suşunun *S. thermophilus* üzerinde olumsuz etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. Raf ömrü sürecinde *Streptococcus thermophilus* sayımı (log kob/g)

Deneme No	0. gün*	10. gün*	21. gün*	Raf Ömrü Sonunda Logaritmik Azalma
N1	8,89 ± 0,01 ^a	8,58 ± 0,06 ^a	8,46 ± 0,06 ^a	0,43 ± 0,03
N2 (kontrol)	8,70 ± 0,06 ^{ab}	8,69 ± 0,02 ^{ab}	8,59 ± 0,04 ^{abcd}	0,11 ± 0,05
N3	8,88 ± 0,08 ^b	8,85 ± 0,03 ^{cd}	8,55 ± 0,03 ^{bcdf}	0,34 ± 0,05
N4	8,76 ± 0,02 ^b	8,67 ± 0,03 ^b	8,64 ± 0,04 ^{bf}	0,12 ± 0,03
N5	8,81 ± 0,02 ^b	8,95 ± 0,01 ^{cde}	8,96 ± 0,01 ^{ce}	-0,15 ± 0,02
N6	8,82 ± 0,05 ^b	8,87 ± 0,02 ^{cd}	8,86 ± 0,02 ^{de}	-0,05 ± 0,04
N7	8,88 ± 0,07 ^b	9,05 ± 0,05 ^{def}	8,96 ± 0,02 ^e	-0,08 ± 0,04
N8	8,86 ± 0,06 ^b	9,09 ± 0,04 ^{ef}	9,04 ± 0,03 ^e	-0,18 ± 0,05
N9	8,73 ± 0,04 ^b	8,67 ± 0,03 ^b	8,64 ± 0,03 ^{bcdf}	0,08 ± 0,04

*Kolmogorov-Smirnov test sonucuna göre parametrik bir test olan ANOVA-Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

Farklı harfler istatistiki olarak farklılığı göstermektedir (p≤0,05).

N1 nolu deneme sadece N2 nolu deneme ile kıyaslanmıştır.

Raf ömrünün 10. gününde N3 (*B. longum*) nolu grupta *S. thermophilus* sayısı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir. Tek başına *B. longum* varlığı *S. thermophilus* gelişimini desteklemiştir. Ancak belirtilen grupların 21. günde benzer *S. thermophilus* sayısına ulaşması, *B. longum*'un raf ömrü sonunda logaritmik olarak 2,46 birim azalması ve *S. thermophilus* üzerindeki etkisini kaybetmesi ile açıklanabilir. N5 (*L. rhamnosus*) nolu grupta ise 10 ve 21. günlerde kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek *S. thermophilus* sayısı tespit edilmiş, raf ömrü sonuna kadar *L. rhamnosus* sayısında azalma görülmemiştir (Şekil 4.14). Tek başına *L.*

rhamnosus varlığının *S. thermophilus* gelişimini 21. güne kadar stimüle ettiği belirlenmiştir.

S. thermophilus'un *L. bulgaricus* (5 suş), *L. acidophilus* (8 suş) ve *Bifidobacterium* spp. (8 suş) üzerindeki etkisini inceleyen çalışmada, 7 adet *S. thermophilus* suşunun hiçbir bakteri üzerinde olumsuz etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Ancak aynı çalışmada 1 adet *S. thermophilus* suşunun, 2 adet *L. bulgaricus* suşundan olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir. (Dave 1998). Bu çalışma yoğurt bakterilerinin birbiri üzerindeki simbiyotik ilişkinin de suş bazında farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

İkili probiyotik içeriğine sahip cacık ürünlerinde (N6, N7 ve N8) *S. thermophilus* sayısı kontrol grubundan istatistiksel olarak daha yüksek tespit edilmiştir. Gruplarda raf ömrü sonuna kadar *S. thermophilus* sayısında azalma görülmemiş, aksine artış olduğu belirlenmiştir. Üç probiyotik bakterinin bulunduğu grupta 10 ve 21. günde *S. thermophilus* sayısı kontrol grubu ile benzer sayılardadır ve ikili probiyotik kombinasyonlarının bulunduğu ürünlerden istatistiksel olarak daha düşük sayıda *S. thermophilus* içermektedir. Çalışmada tek başına ya da ikili probiyotik bakteri varlığının *S. thermophilus* gelişimini destekleyebileceği ancak üçlü kombinasyonunun aynı etkiyi göstermediği belirlenmiştir.

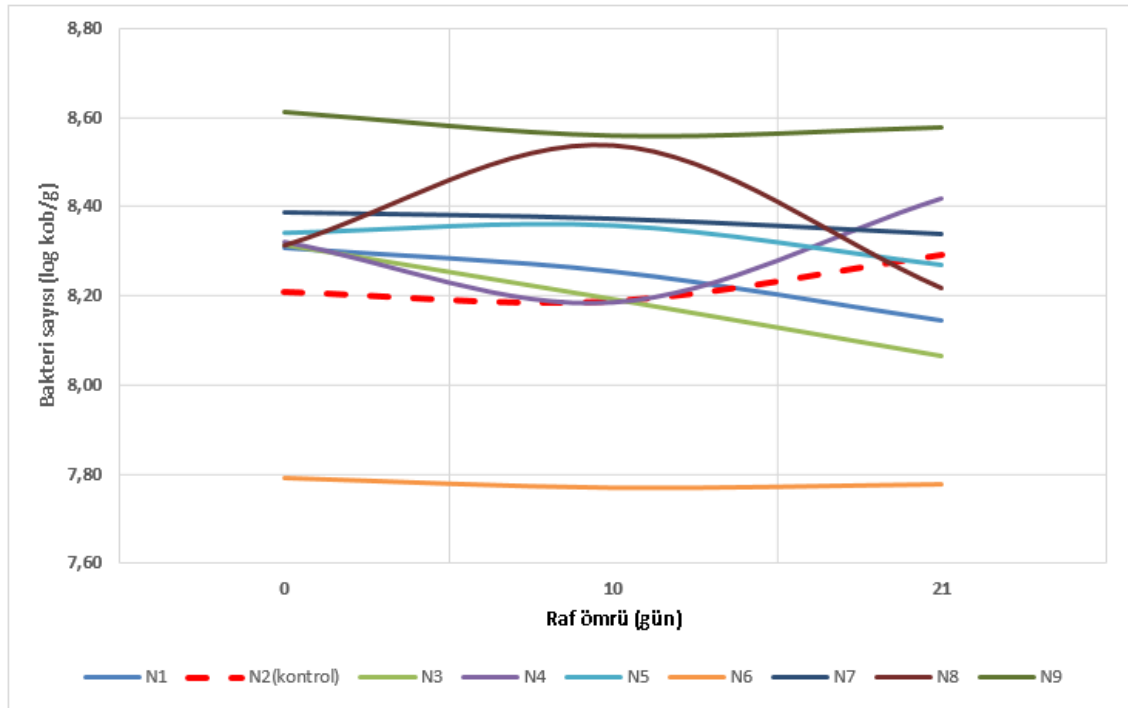
***Lactobacillus bulgaricus* sayısı**

Düşük sayıda *L. bulgaricus* varlığının probiyotik bakterilerin yaşayabilirliği açısından olumlu sonuçlandığı, aksi takdirde *L. bulgaricus* sayısı arttıkça ürünün depolama süresince asitlik gelişiminin hızlı olduğu ve probiyotik bakterilerin bu durumdan olumsuz etkilendiği belirtilmiştir (Dave 1998).

L. bulgaricus sayımlarında grupların genel olarak raf ömrü boyunca *S. thermophilus*'a nazaran daha az değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.15). Başlangıçta gruplar arasında *L. bulgaricus* sayısı bakımından istatistiksel fark bulunmamıştır ancak raf ömrünün 10 ve 21. günlerinde gruplar arasında $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı fark olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

N1 (sarımsaksız) ve N2 (sarımsaklı-kontrol) nolu denemeler arasında 0, 10 ve 21.günlerdeki *L. bulgaricus* sayısı açısından istatistiksel fark tespit edilememesi, ilave edilen miktardaki sarımsağın *L. bulgaricus* gelişimi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

N3 (*B. longum*), N4 (*L. acidophilus*) ve N5 (*L. rhamnosus*) nolu grupların *L. bulgaricus* sayısının raf ömrünün 10. gününde kontrol ile aynı olduğu, ancak raf ömrü sonunda sadece *B. longum* içeren grubun (N3), *L. bulgaricus* sayısında önemli bir azalma olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. *Bifidobacteria* spp.'nin fermentasyon süresince 3:2 oranında asetik asit-laktik asit ürettiği ve bifidobakteriler tarafından üretilen asetik asidin *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu belirtilmiştir (Zacarchenco ve Massaguer-Roig 2006). *B. longum* içeren gruptaki *L. bulgaricus* sayısının raf ömrü sonunda kontrole göre daha düşük olması, *B. longum*'un ürettiği asetik asidin *L. bulgaricus* üzerinde etkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır.



Şekil 4.15. Raf ömrü sürecinde *Lactobacillus bulgaricus* sayımı

Deneme süresince tek başına *L. acidophilus* veya *L. rhamnosus* ilavesinin *L. bulgaricus* gelişimi üzerine etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada ise 8 adet *L. acidophilus* izolatının 7'sinin, *L. bulgaricus* gelişimini olumsuz etkileyen antimikrobiyel bileşikler ürettiği, bu bileşiklerin nötral pH değerlerinde aktif olduğu ve kimotripsin, papain gibi proteolitik enzimlere karşı hassas olduğu belirtilmiştir (Dave 1998). Yapılan denemede de *L. acidophilus*'un *L. bulgaricus* üzerinde herhangi bir etkisinin olmaması, ürünlerin nötral pH değerlerinde olmamaları ve böylelikle *L. acidophilus* tarafından üretilen antimikrobiyel bileşiklerin aktif olmamaları ile açıklanabilir.

Raf ömrü süresince N7 (*L. rhamnosus* ve *B. longum*) nolu grubun *L. bulgaricus* sayısının kontrol grubu ile istatistiksel olarak farklı olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.6). Bu durum *B. longum*'un *L. rhamnosus* ile birlikte kombinasyonlarının tek başına *B. longum*'un raf ömrü sonunda *L. bulgaricus* sayısını düşürücü etkisini elimine ettiğini göstermektedir.

Çizelge 4.6. Raf ömrü sürecinde *Lactobacillus bulgaricus* sayımı (log kob/g)

Deneme No	0. gün **	10. gün *	21. gün *	Raf Ömrü Sonunda Logaritmik Azalma
N1	8,31 ± 0,04 ^a	8,25 ± 0,04 ^a	8,14 ± 0,10 ^a	0,16 ± 0,07
N2 (kontrol)	8,21 ± 0,07 ^{ab}	8,19 ± 0,08 ^{abc}	8,29 ± 0,05 ^{abde}	-0,08 ± 0,06
N3	8,31 ± 0,04 ^b	8,19 ± 0,05 ^{bc}	8,07 ± 0,03 ^{ce}	0,25 ± 0,03
N4	8,32 ± 0,04 ^b	8,19 ± 0,01 ^{bc}	8,42 ± 0,06 ^{bdeg}	-0,10 ± 0,05
N5	8,34 ± 0,04 ^b	8,36 ± 0,06 ^{bef}	8,27 ± 0,03 ^{bcd}	0,07 ± 0,04
N6	7,79 ± 0,04 ^b	7,77 ± 0,01 ^d	7,78 ± 0,05 ^f	0,01 ± 0,05
N7	8,34 ± 0,07 ^b	8,37 ± 0,02 ^{bef}	8,34 ± 0,04 ^{bde}	0,05 ± 0,05
N8	8,31 ± 0,04 ^b	8,54 ± 0,04 ^{ef}	8,22 ± 0,11 ^{bcd}	0,10 ± 0,08
N9	8,61 ± 0,01 ^b	8,56 ± 0,03 ^{cef}	8,58 ± 0,04 ^{dg}	0,03 ± 0,03

*Kolmogorov-Smirnov test sonucuna göre parametrik bir test olan ANOVA-Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

**Kolmogorov-Smirnov test sonucuna göre parametrik olmayan test olan Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Farklı harfler istatistiki olarak farklılığı göstermektedir (p≤0,05).

N1 nolu deneme sadece N2 nolu deneme ile kıyaslanmıştır.

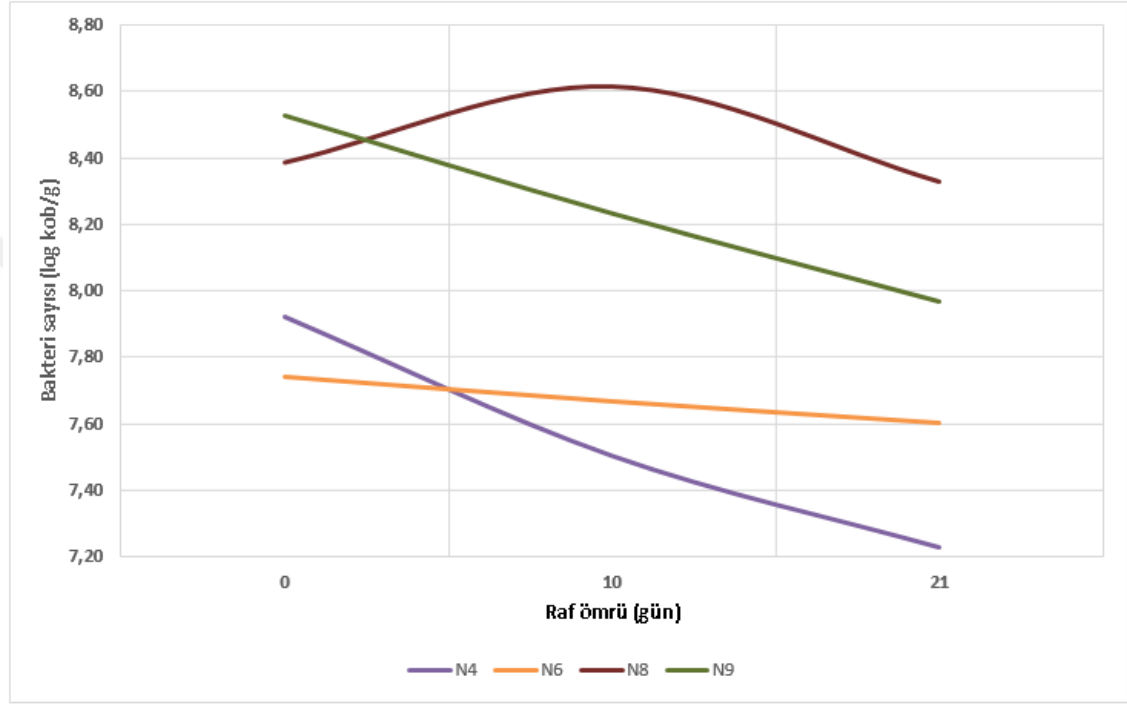
N6 (*L. acidophilus* ve *B. longum*) nolu grubun *L. bulgaricus* sayısının, kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı olduğu ve raf ömrü boyunca tüm gruplardan en düşük *L. bulgaricus* sayısı içerdiği belirlenmiştir (Şekil 4.15). Bu iki probiyotik kombinasyonunda *L. bulgaricus* gelişiminin olumsuz etkilendiği söylenebilir.

N8 (*L. acidophilus* ve *L. rhamnosus*) nolu grupta ise 10. günlerde kontrol grubu ile farklılık tespit edilmiştir. Kontrol grubun *L. bulgaricus* sayısının $8,19 \pm 0,08$ kob/g, N8 nolu grubun $8,54 \pm 0,04$ olduğu belirlenmiştir. Ancak N8 nolu grubun deneme süresi sonuna kadar *L. bulgaricus* sayısında önemli bir azalma görülmüş ve 21. günde kontrol grupla benzer sayıya ulaşmıştır. Tek başına *L. acidophilus* ya da *L. rhamnosus* varlığının *L. bulgaricus* gelişimi üzerinde etkisi bulunmazken, bu bakterilerin birlikte kullanılması *L. bulgaricus* gelişimini stimüle ettiği gözlenmiştir. Ancak bu etki raf ömrü sonunda görülmemiş, bunun nedeninin bakterilerin ürettiği metabolitlerin varlığı, organik asit nedeniyle ortam pH'sının düşmesi ya da besin maddelerinin giderek azalması ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Üçlü probiyotik bakteri kombinasyonunu içeren (N9) denemenin başlangıçtaki *L. bulgaricus* sayısı kontrol grubu ile istatistiksel olarak farklı olmamasına rağmen, 10 ve 21. günde *L. bulgaricus* sayısı tüm gruplardan daha yüksek sayıya ulaşmıştır. Bu durum üç probiyotik bakterinin birlikte *L. bulgaricus* gelişimini stimüle ettiğini göstermektedir. N9 kodlu denemenin raf ömrü sonuna kadar en yüksek sayıda *L. bulgaricus* içermesi, denemeler arasında en düşük pH değerine sahip grubun N9 nolu grup olması ile doğrudan ilişkilidir. Çünkü depolama süresince *L. bulgaricus*'un post-asidifikasyondan sorumlu olduğu bilinmektedir (Dave 1998, Ng ve ark. 2011, Mohammadi ve ark. 2012, Eskandari ve ark. 2012). Bu nedenle günümüzde yeni bir yaklaşım olarak *S. thermophilus*'un tek başına fermentasyondan sorumlu bakteri olarak bulunduğu ve proteolitik aktivitesi *L. bulgaricus*'dan daha az olan bakteriler içeren ABT (*S. thermophilus*, *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp.) kültürü gibi kültürler tercih edilmektedir (Kailasapathy ve ark. 2008).

Lactobacillus acidophilus sayısı

İmmün düzenleyici, patojenlere karşı antagonist etki, kolesterol seviyesini düşürücü gibi terapötik etkilerinden dolayı *L. acidophilus* süt ürünlerinde en yaygın kullanılan probiyotik bakterilerin başında gelmektedir (Li ve ark. 2012).



Şekil 4.16. Raf ömrü sürecinde *Lactobacillus acidophilus* sayımı

Çalışmada grupların genel olarak 21.günde *L. acidophilus* sayılarında azalma olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.16). Bu durum *L. bulgaricus* tarafından üretilen hidrojen peroksitin *L. acidophilus* gelişimi üzerindeki olumsuz etkisi ile açıklanabilir (Dave 1998, Saccaro ve ark. 2009, Sarvari ve ark. 2014). *S. thermophilus* ile hazırlanan ya da iki starter kültürün birlikte kullanılarak hazırlandığı yoğurtlara nazaran, tek başına *L. bulgaricus* ile hazırlanan yoğurtlarda 7-9 kat daha fazla H_2O_2 olduğu belirlenmiştir (Ng ve ark. 2011). Ayrıca Donkor ve ark. (2006) *L. acidophilus* sayısının yoğurt ürünlerinde azalmasının laktik asit ve asetik asit birikimi ile ilgili olduğunu ifade etmektedir. Başka bir çalışmada ise *L. acidophilus*'un ticari yoğurtlarda zayıf hayatta kalma yeteneğine sahip olduğu ve 3-4 haftada başlangıç pH değerinden bağımsız olarak sayılarında ciddi bir azalma olduğu belirtilmektedir (Li ve ark. 2012). Çalışmada tüm gruplarda raf ömrü

sonunda $>10^7$ kob/g *L. acidophilus* olduğu belirlenmiş, bu değerin probiyotik ürünlerde raf ömrü sonuna kadar yasal olarak olması beklenen değerden yüksek olduğu görülmüştür. Raf ömrü sonunda en yüksek logaritmik azalmanın N4 (*L. acidophilus*) nolu grupta, en az logaritmik azalmanın ise N8 (*L. acidophilus* ve *L. rhamnosus*) nolu denemede olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Keçi sütünde *L. acidophilus*'un starter ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmada, *S. thermophilus* ile kombinasyonlarında *L. bulgaricus* ile olduğundan daha yüksek sayıda *L. acidophilus* olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonuçları *L. acidophilus* ve *L. bulgaricus* arasında antagonistik ilişkiyi ortaya koymuştur (Li ve ark. 2012).

Starter bakterilerin 5 farklı *L. acidophilus* suşu üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, suşların hayatta kalma davranışlarının farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Bazı *L. acidophilus* suşlarının her iki starter ile birlikte bulunduğu durumdan olumsuz etkilendiği, en iyi gelişim gösteren *L. acidophilus* SBT2062 sayısında 28 günlük raf ömrü sonunda sadece 0,05 logaritmik azalma tespit edilmiş, *L. acidophilus* NCFM (North Carolina Food Microbiology) suşunda 2,8 logaritmik azalma olduğu belirtilmiştir (Ng ve ark. 2011). Çalışmada *L. acidophilus* 74-2 suşunun iki starter bakteri ile hazırlandığı numunede 21 günlük raf ömrü sonunda $0,69 \pm 0,05$ logaritmik azalma olduğu belirlenmiştir.

N4 (*L. acidophilus*) kodlu deneme ile N6 (*L. acidophilus* ve *B. longum*) nolu grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir (Çizelge 4.7). N6 (*L. acidophilus* ve *B. longum*) ve N4 (*L. acidophilus*) nolu gruplar arasında 0 ve 10. gündeki *L. acidophilus* sayıları açısından fark görülmemesi, *B. longum*'un *L. acidophilus* gelişimi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Dave (1998), yoğurt bakterileri ve *Bifidobacterium* spp.'nin *L. acidophilus* gelişimi üzerine etkisini araştırmış ve tüm test edilen suşlara karşı direnç gösterdiğini belirlemiştir. Çalışmada raf ömrü sonunda tek başına *L. acidophilus* içeren grubun sayısında önemli bir azalma görülürken, N6 (*L. acidophilus* ve *B. longum*) nolu grupta sadece $0,14 \pm 0,09$ log kob/g azalma tespit edilmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Raf ömrü sürecinde *Lactobacillus acidophilus* sayımı (log kob/g)

Deneme No	0. gün **	10. gün *	21. gün *	Raf Ömrü Sonunda Logaritmik Azalma
N4	7,92 ± 0,05 ^a	7,50 ± 0,04 ^a	7,23 ± 0,04 ^a	0,69 ± 0,05
N6	7,74 ± 0,10 ^a	7,67 ± 0,14 ^a	7,60 ± 0,09 ^b	0,14 ± 0,09
N8	8,39 ± 0,05 ^b	8,61 ± 0,02 ^b	8,33 ± 0,07 ^c	0,06 ± 0,07
N9	8,53 ± 0,04 ^b	8,23 ± 0,08 ^c	7,97 ± 0,03 ^d	0,56 ± 0,03

*Kolmogorov-Smirnov test sonucuna göre parametrik bir test olan ANOVA-Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

**Kolmogorov-Smirnov test sonucuna göre parametrik olmayan test olan Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

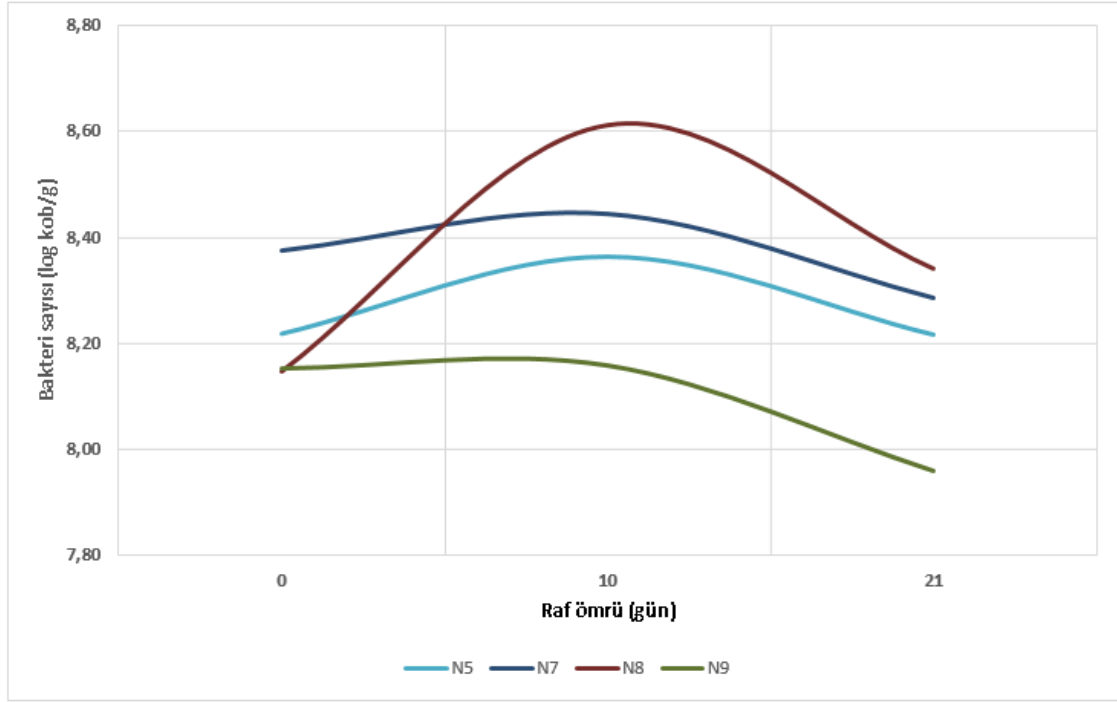
Farklı harfler istatistiki olarak farklılığı göstermektedir (p≤0,05).

Diğer gruplar arasında hem 10 hem de 21. günde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir. Raf ömrü boyunca en yüksek *L. acidophilus* sayısına sahip grubun N8 (*L. acidophilus* ve *L. rhamnosus*) olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.16). Bu sonuç *L. rhamnosus* varlığının *L. acidophilus* gelişimini olumlu yönde etkilediğini göstermektedir. Bu ikili kombinasyona *B. longum* dahil olduğunda (N9 nolu grup) ise, *L. acidophilus* sayısı azalmış, *L. acidophilus* gelişimi olumsuz etkilenmiştir. Yine de N6 (*L. acidophilus* ve *B. longum*) nolu gruptan daha yüksek sayıda raf ömrünü tamamlamıştır.

***Lactobacillus rhamnosus* sayısı**

Başlangıçta gruplar arasında *L. rhamnosus* HN001 sayısı bakımından istatistiksel olarak fark tespit edilmemiş, ancak raf ömrünün 10 ve 21. günlerinde bazı gruplar arasında farklılıklar belirlenmiştir. Diğer probiyotik bakterilere göre *L. rhamnosus* sayısında genel olarak raf ömrü boyunca logaritmik azalmanın daha düşük olduğu söylenebilir (Şekil 4.17). Bütün gruplarda raf ömrü sonunda >10⁷ kob/g düzeyinde *L. rhamnosus* sayısı tespit edilmiştir. *Lactobacillus reuteri* RC-14 ve *L. rhamnosus* GR-1 probiyotik bakterilerinin yoğurttaki canlılıklarının raf ömrü boyunca incelendiği çalışmada, bir ay sonunda *L. reuteri* sayısının 7 x 10³ kob/mL'e kadar düştüğü ancak *L. rhamnosus* sayısının 3 x 10⁷ kob/mL seviyesinde kaldığı ve *L. rhamnosus*'un yoğurt ürünlerinde probiyotik mikroorganizma olarak tercih edilebileceği vurgulanmıştır (Hekmat ve ark. 2009). Farklı probiyotik bakteriler üzerinde sıcaklığın etkisinin araştırıldığı çalışmada,

benzer bir sonuç *L. rhamnosus* HN001 suşu için tespit edilmiş, çalışmada kullanılan probiyotik bakteriler arasında yoğurttta kullanabilecek en uygun probiyotik suşun *L. rhamnosus* HN001 olduğu ifade edilmiştir (Ferdousi ve ark. 2013).



Şekil 4.17. Raf ömrü sürecinde *Lactobacillus rhamnosus* sayımı

Farklı probiyotik bakteri kombinasyonları ile hazırlanan peynir bazlı soslarda probiyotik mikroorganizmaların hayatta kalma yeteneklerinin incelendiği çalışmada, *L. rhamnosus*'un 4 farklı kombinasyonda hiçbir probiyotik bakteriden olumsuz etkilenmediği tespit edilmiştir (Tharmaraj ve ark. 2004).

N5 (*L. rhamnosus*) ile N7 (*L. rhamnosus* ve *B. longum*) nolu grubun *L. rhamnosus* sayısı açısından 0, 10 ve 21.günlerde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemesi, *B. longum* varlığının *L. rhamnosus* gelişimi üzerinde olumlu ya da olumsuz herhangi bir etkisinin bulunmadığını göstermektedir. N8 (*L. acidophilus* ve *L. rhamnosus*) ile N5 (*L. rhamnosus*) nolu grup arasında raf ömrünün 10. gününde istatistiksel fark görülürken, 21. günde benzer değerlere ulaştığı görülmüştür. Raf ömrü sonunda logaritmik azalmanın görülmediği ve 10. günde *L. rhamnosus*'un diğer gruplara nazaran en yüksek sayıya ulaştığı grup N8'dir (Çizelge 4.8). Bu durum *L. acidophilus*'un *L. rhamnosus*

gelişimini olumlu yönde etkilediğini göstermektedir. Benzer bir sonuç peynir bazlı sosların probiyotik mikroorganizmalar ile hazırlandığı bir çalışmada elde edilmiştir. *L. acidophilus*'un *B. animalis* ve *L. rhamnosus* gelişimine katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Tharmaraj ve ark. 2004).

Çizelge 4.8. Raf ömrü sürecinde *Lactobacillus rhamnosus* sayımı (log kob/g)

Deneme No	0. gün*	10. gün*	21. gün*	Raf Ömrü Sonunda Logaritmik Azalma
N5	8,22 ± 0,06 ^a	8,36 ± 0,05 ^a	8,22 ± 0,07 ^a	0,00 ± 0,07
N7	8,37 ± 0,07 ^a	8,44 ± 0,06 ^{ab}	8,28 ± 0,04 ^a	0,09 ± 0,06
N8	8,15 ± 0,09 ^a	8,61 ± 0,03 ^b	8,34 ± 0,04 ^a	-0,19 ± 0,07
N9	8,15 ± 0,10 ^a	8,16 ± 0,08 ^c	7,96 ± 0,01 ^b	0,19 ± 0,06

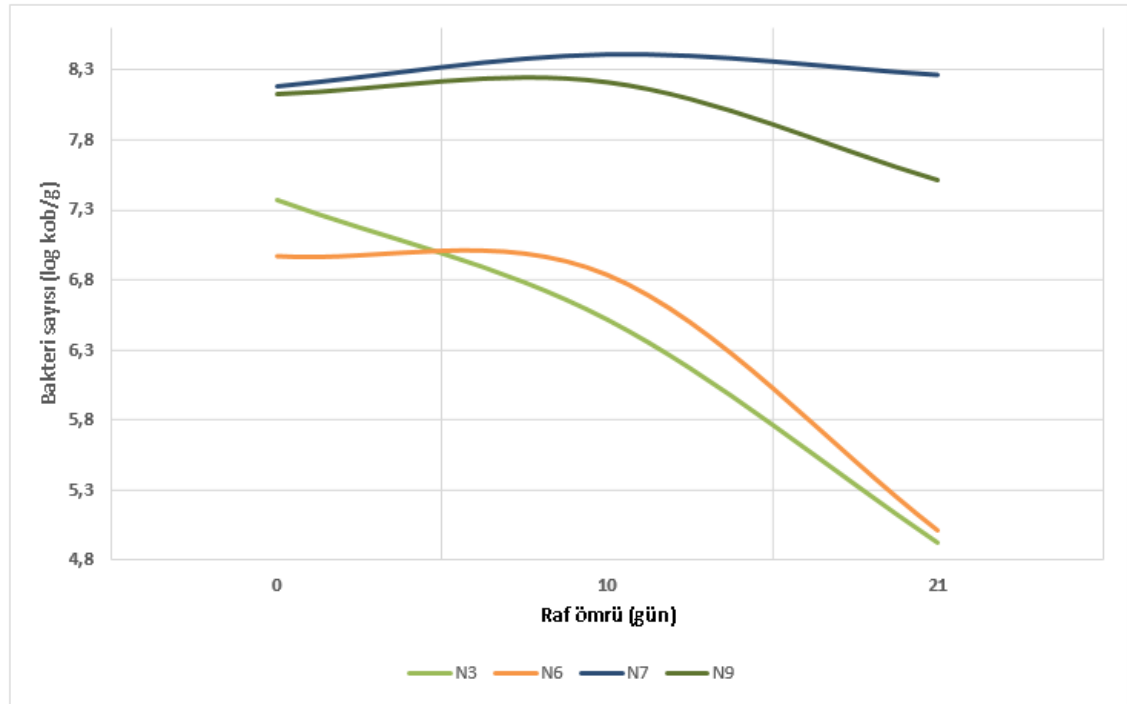
*Kolmogorov-Smirnov test sonucuna göre parametrik bir test olan ANOVA-Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Farklı harfler istatistiki olarak farklılığı göstermektedir (p≤0,05).

Üç probiyotik bakterinin bulunduğu N9 nolu grubun *L. rhamnosus* sayısı raf ömrünün 10 ve 21. günlerinde diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak farklıdır ve daha az sayıda *L. rhamnosus* içermektedir (Çizelge 4.8). Bu durum *L. acidophilus* ve *B. longum*'un birlikte *L. rhamnosus* üzerinde olumsuz etkisi olduğu şeklinde yorumlanabilir.

***Bifidobacterium longum* sayısı**

Birçok *Bifidobacterium* spp.'nin proteolitik aktivitesinin zayıf olduğu ve gelişimi için bazı temel serbest amino asitlere ihtiyacının olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle proteolitik aktivitesi yüksek *L. bulgaricus* varlığının *Bifidobacterium* spp. gelişimini stimüle ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca *L. acidophilus*'un aksine *Bifidobacterium* spp.'nin hidrojen peroksitten olumsuz etkilenmediği de belirlenmiştir (Dave 1998). Dokuz bifidobakteri üzerinde asit ve hidrojen peroksitin etkilerinin incelendiği bir çalışmada bazı *Bifidobacteria* spp.'lerin olumsuz etkilendiği, ancak *B. longum*'un da içlerinde bulunduğu 3 bakterinin asit ve hidrojen peroksit varlığında oldukça iyi geliştiği ve ticari ürünlerde bu bakteri türlerinin tercih edilmesi gerektiği bildirilmiştir (Lankaputhra ve ark. 1996).

Yapılan çalışma sonucunda probiyotik bakteriler arasında *B. longum* en fazla logaritmik azalmanın olduğu bakteridir. *Bifidobacterium* spp.'nin oksijene duyarlılığının *L. acidophilus*'dan daha fazla olduğu ancak bu etkinin de suş bazında farklılık gösterdiği bilinmektedir (Talwalkar ve Kailasapathy 2004, Mohammadi ve ark. 2012). Ayrıca *S. thermophilus* ve *Bifidobacterium* spp.'nin düşük pH değerine diğer bakterilerden daha duyarlı olduğu belirtilmiştir (Dave 1998). Bazı çalışmalarda (Vinderola ve ark. 2000, Zacarchenco ve Massaguer-Roig 2006) bifidobakterilerin yoğurtlarda *L. acidophilus* tan daha stabil olduğu belirtilse de çalışmada *B. longum*'un raf ömrü sonunda en çok etkilenen bakteri olduğu söylenebilir. Bazı gruplarda logaritmik azalmanın fazla olması, örnek içerisinde bulunan diğer bakterilerin de bu gelişim üzerinde etkisinin olduğunu düşündürmektedir.



Şekil 4.18. Raf ömrü sürecinde *Bifidobacterium longum* sayımı

N3 (*B. longum*) ve N6 (*L. acidophilus* ve *B. longum*) nolu gruplarda raf ömrü sonunda *B. longum* sayısı $<10^5$ kob/g olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.18). Yasal olarak probiyotik ürünlerin raf ömrü boyunca en az 10^6 değerinde probiyotik bakteri içermesi gerektiğinden, bu grupların başarısız olduğu sonucuna varılabilir. Samona ve Robinson (1994) yoğurt bakterilerinin *B. longum* gelişimini baskılama eğiliminde olduklarını,

ancak aynı etkinin depolama süresince görülmediğini bildirmişlerdir. *L. acidophilus*'un *Bifidobacterium* spp. üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada, 8 izolattan 7'sinin *Bifidobacterium* spp. gelişimini olumsuz etkilediği tespit edilmiştir (Dave 1998). Çalışmada da benzer bir sonuç elde edilmiş, N6 nolu grupta raf ömrü sonunda terapötik dozdan daha düşük sayıda *B. longum* olduğu belirlenmiştir.

Raf ömrü başında ve 10. günlerinde N7 (*L. rhamnosus* ve *B. longum*) ve N9 (*L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *B. longum*) nolu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, N3 (*B. longum*) ve N6 (*L. acidophilus* ve *B. longum*) nolu gruplar diğer tüm denemelerden farklıdır ve daha az sayıda *B. longum* içermektedir. Başlangıçta N3 (*B. longum*) nolu grubun *B. longum* sayısı N6'ya göre daha yüksek tespit edilmiştir. Ancak raf ömrü boyunca N3 (*B. longum*) nolu grupta logaritmik azalmanın daha yüksek olması ile raf ömrü sonunda en düşük sayıya ulaşmıştır (Çizelge 4.9). N7 (*L. rhamnosus* ve *B. longum*) nolu grubun raf ömrü boyunca en yüksek sayıda *B. longum* içermesi *L. rhamnosus*'un *B. longum* gelişimini desteklediğini göstermektedir. Raf ömrü sonunda üç probiyotik bakteri içeren N9 nolu (*L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *B. longum*) grupta N7 (*L. rhamnosus* ve *B. longum*) nolu gruba göre daha yüksek logaritmik azalma görülmüştür (Çizelge 4.9). Bu durum *L. rhamnosus*'un raf ömrü sonunda N9 (*L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *B. longum*) nolu grupta daha çok azalmasıyla ve *B. longum* gelişimini destekleyici etkisini kaybetmesiyle açıklanabilir.

Çizelge 4.9. Raf ömrü sürecinde *Bifidobacterium longum* sayımı (log kob/g)

Deneme No	0. gün*	10. gün*	21. gün*	Raf Ömrü Sonunda Logaritmik Azalma
N3	7,37 ± 0,05 ^a	6,52 ± 0,03 ^a	4,93 ± 0,07 ^a	2,45 ± 0,06
N6	6,97 ± 0,02 ^b	6,83 ± 0,13 ^b	5,01 ± 0,02 ^a	1,95 ± 0,02
N7	8,18 ± 0,10 ^c	8,41 ± 0,05 ^c	8,27 ± 0,07 ^b	-0,08 ± 0,09
N9	8,12 ± 0,04 ^c	8,21 ± 0,12 ^c	7,51 ± 0,01 ^c	0,61 ± 0,03

*Kolmogorov-Smirnov test sonucuna göre parametrik bir test olan ANOVA-Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

Farklı harfler istatistiki olarak farklılığı göstermektedir (p<0,05).

4.2.5. Duyusal değerlendirme sonuçları

Çalışmada on beş eğitimli panelist 9 farklı içeriğe sahip cacık numunelerini 9 puanlık hedonik skalada değerlendirmiştir. Çizelge 4.10'da sonuçlar ortalama skor ve standart sapma değerleri ile birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.10. Duyusal analiz sonuçları

Deneme No	Tat*	Yapı*
N1	4,80 ± 1,90 ^a	6,46 ± 1,35 ^a
N2 (kontrol)	5,26 ± 1,53 ^{ab}	6,26 ± 1,53 ^{ab}
N3	5,13 ± 1,24 ^b	6,33 ± 1,23 ^b
N4	5,33 ± 1,80 ^{bc}	6,13 ± 1,46 ^b
N5	5,46 ± 1,64 ^{bc}	6,33 ± 1,34 ^b
N6	5,46 ± 1,24 ^{bc}	6,20 ± 1,32 ^b
N7	5,66 ± 1,68 ^{bc}	6,00 ± 1,65 ^b
N8	5,66 ± 1,17 ^{bc}	6,53 ± 1,12 ^b
N9	6,26 ± 1,83 ^c	6,66 ± 1,34 ^b

*Parametrik test olmayan Wilcoxon Signed Rank testi kullanılmıştır. Farklı harfler istatistiki olarak farklılığı göstermektedir (p≤0,05). N1 nolu deneme sadece N2 nolu deneme ile kıyaslanmıştır.

N1 (sarımsaksız) ve N2 (sarımsaklı-kontrol) nolu grupların tat bakımından duyusal değerlendirme sonuçlarına göre, istatistiksel olarak fark tespit edilmemiştir. Sarımsaksız ve sarımsaklı cacık duyusal değerlendirmede panelistlerden benzer puanlar almıştır. Bu durum sarımsaksız cacığın da beğeni ile tüketilebileceğini göstermektedir.

Probiyotik bakteriler ile yapılan cacıkların tat bakımından ise sadece üç probiyotik bakteriyi içeren N9 nolu grubun sarımsaksız cacıktan, kontrol grubundan ve N3 (*B. longum*) nolu gruptan istatistiksel olarak farklı olduğu ve tüm gruplardan daha yüksek puan aldığı belirlenmiştir. Yapı bakımından gruplar arasında farklılık tespit edilmemiştir.

5. SONUÇ

Çalışmada kullanılan bakterilerin gelişim eğrileri 37 °C’de MRS broth besiyerinde değerlendirilmiş, spesifik gelişme hızı ve jenerasyon süreleri elde edilen sonuçlardan hesaplanmıştır. *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *B. longum* BB536, *L. acidophilus* 74-2 ve *L. rhamnosus* HN001™’nin jenerasyon sürelerinin sırasıyla, 2,7 sa., 1,5 sa., 1,30 sa., 0,48 sa., ve 0,36 sa., olarak belirlenmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonunda *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*’un birlikte bulunduğu MRS sıvı besiyerindeki pH düşüşü 2,35 birim, *L. rhamnosus*’un 1,63 birim, *L. acidophilus*’un 1,49 birim ve *B. longum*’un sıvı besiyerindeki pH düşüşü ise 0,33 birimdir.

Sarımsağın çalışmada kullanılan yoğurt ve probiyotik bakterileri üzerindeki etkisi, disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. 10 µL sarımsak ekstraktının *L. acidophilus* 74-2 üzerinde olumsuz etkisi görülmezken, sarımsağa en hassas bakterinin $49,37 \pm 0,87$ mm zon çapı ile *B. longum* olduğu belirlenmiştir. Çalışmada sarımsağa duyarlı bakterilerin sırasıyla *L. bulgaricus* ($35,55 \pm 0,37$ mm), *S. thermophilus* ($28,16 \pm 0,96$ mm) ve *L. rhamnosus* ($18,81 \pm 0,67$ mm) olduğu tespit edilmiştir.

Farklı bakteri kombinasyonları ile üretilen cacıkların inkübasyon süreleri ve fizikokimyasal özellikleri değerlendirilmiştir. Inkübasyon sıcaklığı $41 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ve sonlandırma pH değeri ise 4,60 olarak ayarlanmıştır. Bu koşullarda en erken sürede sonlandırma pH değerine ulaşan grup üç probiyotik bakteri içeriğine sahip olan grup ve 3,8 saatte inkübasyonu tamamlamıştır. Ardından kontrol grubu olarak değerlendirilen standart yoğurt bakterileri ile sarımsaklı olarak üretilen cacık 4,0 saatte 4,60 pH değerine ulaşmıştır. İkinci saatte diğer tüm gruplardan en yüksek pH değerine sahip grup kontrol grubu iken, inkübasyon süresince hızlı bir pH düşüşü görülmüş ve ikinci sırada inkübasyon sonlanmıştır. Tekli probiyotik bakteri içeriğine sahip gruplar arasında, *L. acidophilus* 4,2 saat, *B. longum* 4,5 saat, *L. rhamnosus* ise 5,25 saat sonra inkübasyonu tamamlamıştır. MRS sıvı besiyerinde 37 °C’de *B. longum* en az pH değişimine neden olurken, sütteki asitlik gelişiminin daha iyi olduğu tekli probiyotik bakteri içeriğine sahip numuneler arasında 2. sırada inkübasyonu tamamladığı tespit edilmiştir. Bu durum sıcaklık ve medyanın bakteri gelişiminde önemli etkisinin

olduğunu vurgulamaktadır. İkili probiyotik içeriğe sahip gruplarda ise *L. acidophilus*'un bulunduğu gruplar 5,0 saatte, *L. rhamnosus* ve *B. longum*'un birlikte bulunduğu grup ise 5,2 saatte inkübasyonu tamamlamıştır. Tek başına *L. acidophilus* varlığında daha erken 4,6 pH değerine ulaşılırken, *L. rhamnosus* ya da *B. longum* ile birlikte bulunduğu inkübasyon süresinin uzadığı görülmüştür. Çalışmada cacıkların yağ değerlerinin %2,10-2,18 arasında, toplam kurumadde değerlerinin %14,47-15,00 arasında, protein değerlerinin %4,00-4,13 arasında, konsistens değerlerinin ise 8 – 10 cm arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Raf ömrü boyunca cacıkların pH gelişimleri ve toplam aerobik mezofilik bakteri sayımları günlük olarak analiz edilmiş, 1, 10 ve 21. gün değerleri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sarımsak varlığı asitlik gelişimini olumsuz etkilemiş, ancak raf ömrü sonunda sarımsaklı cacık ile benzer pH değerlerine ulaştıkları görülmüştür. *B. longum* içeren grubun raf ömrü boyunca kontrol grup ile benzer pH değerine sahip olması, *B. longum*'un raf ömrü boyunca asitlik gelişiminde katkısının olmadığını göstermektedir. *L. acidophilus* ve *B. longum*'un birlikte bulunduğu cacık ürününde pH değeri raf ömrü boyunca diğer tüm gruplardan daha yüksek tespit edilmiştir. *L. acidophilus* tek başına bulunduğu post-asidifikasyon gelişimi olumsuz etkilenmezken, *B. longum* ile birlikteliklerinde pH gelişimi olumsuz yönde etkilenmiştir. Üç probiyotik bakteriyi içeren grubun pH değeri ise raf ömrü sonunda gruplar arasında en düşük değere ulaşmıştır. Bu durum *L. bulgaricus* içeriğinin raf ömrü boyunca bu grupta en yüksek sayıda canlı kalmasıyla doğrudan ilişkilidir. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının gruplar arasında farklılık gösterdiği raf ömrü boyunca bazı gruplarda azaldığı, bazı gruplarda arttığı belirlenmiştir.

Raf ömrü boyunca %0,02 oranında sarımsak varlığının *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayısı üzerine olumsuz etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Cacıkların *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* sayıları $>10^7$ kob/g olarak belirlenirken, tek başına *B. longum* ve *L. acidophilus* ile birlikte *B. longum* bulunan grupta *B. longum* sayısının 10^5 kob/g değerine düştüğü görülmüş, yasal mevzuata uygunluk açısından değerlendirildiğine bu gruplar çalışmada başarısız olarak değerlendirilmiştir. Yasal

mevzuata göre raf ömrü sonunda ürüne ilave edilen mikroorganizma sayısının en az 10^6 kob/g-ml olması gerekmektedir.

Tek başına *B. longum* ya da *L. rhamnosus* varlığının *S. thermophilus* gelişimini stimüle ettiği, ancak *L. acidophilus*'un *S. thermophilus* gelişimi üzerinde etkisinin olmadığı belirlenmiştir. İkili probiyotik bakteri içeriğine sahip gruplarda raf ömrü boyunca *S. thermophilus* sayısı artarken, diğer gruplarda azalma tespit edilmiş, üçlü probiyotik içeriğe sahip grupta *S. thermophilus* sayısı en az logaritmik azalmanın olduğu grup olarak belirlenmiştir.

Raf ömrü boyunca tek başına *L. acidophilus* ya da *L. rhamnosus* varlığı *L. bulgaricus* sayısını değiştirmemiş ancak bu bakteriler birlikte bulunduğu *L. bulgaricus* gelişimi olumlu yönde etkilenmiştir. Raf ömrü sonunda tek başına *B. longum* içeren grupta *L. bulgaricus* sayısının azaldığı, bu durumun *B. longum* tarafından üretilen asetik asit nedeniyle olabileceği düşünülmektedir. *B. longum* ile *L. rhamnosus* birlikte bulunduğu ise *B. longum*'un *L. bulgaricus* üzerindeki olumsuz etkisi ortadan kalkmıştır. Üç probiyotik bakteri varlığı ise *L. bulgaricus* gelişimini stimüle etmiş, diğer tüm gruplardan daha yüksek sayıda raf ömrünü tamamladığı belirlenmiştir.

B. longum'un *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı, ancak *L. acidophilus*'un *B. longum* gelişimini olumsuz, *L. rhamnosus*'un *B. longum* gelişimini ise olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir. Çalışmada *L. rhamnosus* varlığının *B. longum* gelişimini stimüle ettiği, *L. acidophilus* ile arasında mutual ilişki olduğu saptanmıştır.

Duyusal değerlendirme sonucunda en yüksek puan ortalamasına sahip grubun üç probiyotik bakteriyi de içeren grup olduğu ve raf ömrü sonuna kadar içerdiği bakteri sayılarının beklenen $>10^7$ kob/g değerinde olduğu belirlenmiştir. İkinci duyusal olarak kabul gören gruplar ikili probiyotik içeriğe sahip *L. rhamnosus* - *B. longum* ve *L. rhamnosus* - *L. acidophilus*'un bulunduğu gruplardır ve bu gruplarda bakteri sayıları raf ömrü sonuna kadar istenen canlılıkta kalabilmiştir. Endüstriyel olarak üretilecek cacıkların bu üç grup arasında tercih edilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahasan, A.S.M.L., Agazzi, A., İvernizi, G., Bontempo, V., Savoini, G. 2015.** The beneficial role of probiotics in monogastric animal nutrition and health. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, 2(4):1-20.
- Ahn, Y. T., Lim, K. L., Ryu, J. C., Kang, D. K., Ham, J. S., Jang, Y. H., Kim, H. U. 2002.** Characterization of *Lactobacillus acidophilus* isolated from piglets and chicken. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 15(12): 1790-1797.
- Akbarzadeh, F., Homayouni, A. 2012.** Dairy probiotic foods and coronary heart disease: A review on mechanism of action. *Intech Open Access Publisher*, 5(1): 121-128.
- Akın, M.S., 1996.** İnek ve keçi sütlerinden üretilen ve 15 gün süre ile depolanan meyveli-aromalı ve sade yoğurtların nitelikleri üzerine karşılaştırmalı bir araştırma. *Doktora Tezi*, ÇÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- Ali, F., Saad, O., Salwa, A. 2013.** Probiotic stability of yoghurts during refrigerated storage. *Egypt. Acad. J. Biol. Sci.*, 5(2): 9-19.
- Allahyari, M. 2015.** Türkiye’de üretilen ticari UHT süt örneklerinin homojenizasyon etkinliği ve renk özelliklerinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, AÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.
- Alvarez-Sieiro, P., Montalbán-López, M., Mu, D., Kuipers, O.P. 2016.** Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 100(7): 2939-2951.
- Amaretti, A., Bernardi, T., Tamburini, E., Zanoni, S., Lomma, M., Matteuzzi, D., Rossi, M. 2007.** Kinetics and metabolism of *Bifidobacterium adolescentis* MB 239 growing on glucose, galactose, lactose, and galactooligosaccharides. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(11): 3637-3644.
- Andresen, V., Baumgart, D.C. 2006.** Role of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: potential mechanisms and current clinical evidence. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 1(1): 11-18.
- Anonim, 2014.** Cacık. <http://research.omicsgroup.org/index.php/Cacık>-(Erişim Tarihi: 14.02.2016).
- Anukam, K.C., Gregor, R. 2007.** Probiotics: 100 years (1907-2007) after Elie Metchnikoff’s observation. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, 1: 466-474.
- Arauz, M.T., Martínez Perea, V. 2014.** Mechanism of action and validity of probiotics for treatment of IBS. Biomedical Sciences Degree 2013-2014, Autonomous University of Barcelona.
- Arıca, V. 2011.** Çocukluk çağında üst solunum yolu enfeksiyonları tedavi ve korunmasında probiyotik kullanımı: Sağlıklı kalmak için probiyotikler&prebiyotikler anlatılmayan tarihçe, Editör: Özen, M.; İstanbul,Türkiye, s.165-175.
- Asburç, M., Olgaç, B., Sezer, O.B., Özçay, F. 2013.** Fonksiyonel kabızlığı olan çocuklarda probiyotik ve laktuloz tedavilerinin etkinliğinin karşılaştırılması ve kabızlık tedavisinin yaşam kalitesi üzerine olan etkisinin değerlendirilmesi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 56(1): 1-7.
- Aune, D., Norat, T., Romundstad, P., Vatten, L.J. 2013.** Dairy products and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 98(4): 1066-1083.

- Aydın, A. 2006.** Probiyotiklerin insan sağlığındaki önemi. http://www.gidaraporu.com/probiyotikler-insan-sagligi-onemi_g.htm- (Erişim tarihi 26.04.2016).
- Baladura, E. 2011.** Süzme Yoğurtlarının Fonksiyonel Özelliklerinin Arttırılmasında Bazı Diyet Liflerin Kullanılması Üzerine Araştırmalar. *Yüksek Lisans Tezi*, CBÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Manisa.
- Banina, A., Vukasinovic, M., Brankovic, S., Fira, D., Kojic, M., Topisirovic, L. 1998.** Characterization of natural isolate *Lactobacillus acidophilus* BGRA43 useful for acidophilus milk production. *J. Appl. Microbiol.*, 84(4): 593-599.
- Bevilacqua, A., Costabile, A., Bergillos-Meca, T., Gonzalez, I., Landriscina, L., Ciuffreda, E., D'Angello, P., Corbo, M.R., Sinigaglia, M., Lamacchia, C. 2016.** Impact of gluten-friendly bread on the metabolism and function of in vitro gut microbiota in healthy human and coeliac subjects. *PloS One*, 11(9): 1-21.
- Booyens, J., Thantsha, M.S. 2013.** Antibacterial effect of hydrosoluble extracts of garlic (*Allium sativum*) against *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 7(8): 669-677.
- Brito, M.B., Diaz, J.P., Quezada, S.M., Liorente, C.G., Gil, A. 2012.** Probiotic mechanisms of action. *Ann. Nutr. Metab.*, 61(2): 160-174.
- Brizuela, M. A., Serrano, P., Pérez, Y. 2001.** Studies on probiotics properties of two *Lactobacillus* strains. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 44(1): 95-99.
- Canbulat, Z. 2010.** *Lactobacillus rhamnosus* kültürü ile probiyotik yoğurt üretimi. *Yüksek Lisans Tezi*, UÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa.
- Cengiz, A.B., Çelik, M. 2011.** Probiyotikler ve mukozal immünite(GALT ve BALT): Sağlıklı kalmak için probiyotikler&prebiyotikler anlatılmayan tarihçe, Editör: Özen, M.; İstanbul,Türkiye, s. 27-36.
- Ceyhan, N., Alıç, H. 2012.** Bağırsak mikroflorası ve probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(1): 107-113.
- Champagne, C. P., Green-Johnson, J., Raymond, Y., Barrette, J., Buckley, N. 2009.** Selection of probiotic bacteria for the fermentation of a soy beverage in combination with *Streptococcus thermophilus*. *Food Res. Int.*, 42(5): 612-621.
- Chojnacka, K. 2009.** Fermentation products: Chemical engineering and chemical process technology, Ed: Pohorecki, R., Bridgwater, J., Molzahn, M., Gani, R., United Kingdom, pp: 189-218.
- Collado, M.C., Meriluoto, J., Salminen, S. 2007.** *In vitro* analysis of probiotic strain combinations to inhibit pathogen adhesion to human intestinal mucus. *Food Res. Int.*, 40(5): 629-636.
- Çayır, M.S. 2007.** Probiyotik kültür kullanılarak üretilen kayısı katkılı yoğurtların bazı özellikleri. *Yüksek Lisans Tezi*, ÇÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- Çakmakçı, S., Çetin, B., Turgut, T., Gürses, M., Erdoğan, A. 2012.** Probiotic properties, sensory qualities, and storage stability of probiotic banana yogurts. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 36(3): 231-237.
- Çokuğraş, F.Ç., Beşer,Ö.F. 2011.** İnfantil kolikte pro/prebiyotiklerin rolü:Sağlıklı kalmak için probiyotikler&prebiyotikler anlatılmayan tarihçe, Editör: Özen, M.; İstanbul,Türkiye, s. 87-93.

- Çomak, E.M., 2010.** Farklı inkübasyon sıcaklıkları ve sonlandırma pH larının acidophiluslu yoğurdun fizikokimyasal, mikrobiyolojik, duyu ve probiyotik özellikleri üzerine etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, AÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya.
- Damin, M.R., Minowa, E., Alcantara, M.R., Oliveira, M.N. 2008.** Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. *J. Texture Stud.*, 39(1): 40-55.
- Dash, S.K. 2009.** Selection Criteria for Probiotics. Süt Endüstrisi Konferansı, 7-9 Şubat, 2009, Kala Akademi, Panjim, Goa.
- Dave, R. I. 1998.** Factors affecting viability of yoghurt and probiotic bacteria in commercial starter cultures. *Ph.D. Thesis*, Victoria University of Technology, Australia.
- Delcenserie, V., Martei, D., Lamoureux, M., Amiot, J., Boutin, Y., Roy, D. 2012.** Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. *Curr. Issues Mol. Biol.* 10(1/2): 37-54.
- Dimidi, E., Christodoulides, S., Fragkos, K.C., Scott, S.M., Whelan, K. 2014.** The effect of probiotics on functional constipation: a systematic review of randomised controlled trials. *Proc. Nutr. Soc.*, 73(OCE1): E16.
- Dirienzo, D.B. 2013.** Effect of probiotics on biomarkers of cardiovascular disease: implications for heart-healthy diets. *Nutr. Rev.*, 72(1): 18–29.
- Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N. P. 2006.** Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *Int. Dairy J.*, 16(10): 1181-1189.
- Douglas, A., Minihane, A.M., Givens, D.I., Reynolds, C.K., Yaqoob, P. 2012.** Differential effects of dairy snacks on appetite, but not overall energy intake. *Br. J. Nutr.*, 108(12): 2274-2285.
- Dunne, J., Evershed, R. P., Salque, M., Cramp, L., Bruni, S., Ryan, K., Lerner, S. 2012.** First dairying in green Saharan Africa in the fifth millennium BC. *Nature*, 486(7403): 390-394.
- Elsayed, E. A., Othman, N. Z., Malek, R., Tang, T., Enshasy, H. A. 2014.** Improvement of cell mass production of *Lactobacillus delbrueckii* sp. *bulgaricus* WICC-B-02: A newly isolated probiotic strain from mother's milk. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(11): 8-14.
- Eskandari, M.H., Baroutkoub, A., Roushan Zamir, M., Beglarian, R., Ghasemkhani, I., Shekarforoush, S.S. 2012.** Effect of milk supplementation on growth and viability of starter and probiotic bacteria in yogurt during refrigerated storage. *Iran J. Vet. Res.*, 13(3): 195-202.
- European Sensory Network, 2015.** Guidelines for consumer testing - guidance from ESN members. <http://www.esn-network.com/research/consumer-testing-guidelines-> (28.10.2016).
- Evershed, R.P., Payne, S., Sherratt, A.G., Copley, M.S., Coolidge, J., Urem-Kotsu, D., Akkermans, P.M. 2008.** Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding. *Nature*, 455(7212): 528-531.
- Ewaschuk, J.B., Dieleman, L.A. 2006.** Probiotics and prebiotics in chronic inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 12(37): 5941-5950.
- Fani, M.M., Kohanteb, J., Dayaghi, M. 2007.** Inhibitory activity of garlic (*Allium sativum*) extract on multidrug-resistant *Streptococcus mutans*. *J. Indian Soc. Pedod. Prevent Dent.*, 25(4): 164-168.

- Fedorak, R.N., Madsen, K.L. 2004.** Probiotics and the management of inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, 10(3): 286-299.
- Ferdousi, R., Rouhi, M., Mohammadi, R., Mortazavian, A. M., Khosravi-Darani, K., Homayouni Rad, A. 2013.** Evaluation of probiotic survivability in yogurt exposed to cold chain interruption. *Iran J. Pharm. Res.*, 12: 139-144.
- Food, Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO). 2001.** Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of A Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Cordoba, Argentina.
- Fuller, R. 1989.** A Review-Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, 66: 365-378.
- Garro, M.S., Aguirre, L., De Giori, G.S. 2006.** Biological activity of *Bifidobacterium longum* in response to environmental pH. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 70(5): 612-617.
- Gogineni, V.K., Morrow, L., Malesker, M.A. 2013.** Probiotics: Mechanisms of action and clinical applications. *Journal Probiotics Health*. 1(101): 2-11.
- Guarner, F., Schaafsma, G. J. 1998.** Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 39(3), 237-238.
- Guarner, F., Khan A.G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., Krabshuis, J., Mair T.L. 2011.** Probiotics and prebiotics. World Gastroenterology Organisation Practice Guideline. Probiotics and Prebiotics-May 2008: guideline. *South African Gastroenterology Review*, 6(2): 14-25.
- Gustaw, W., Kordowska-Wiater, M., Koziol, J. 2011.** The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yoghurt production. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 10(4): 455-466.
- Gündoğdu, E., Cakmakci, S., Dağdemir, E. 2009.** The effect of garlic (*Allium sativum*) on some quality properties and shelf-life of set and stirred yoghurt, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 33(1): 27-35.
- Güneş, R.M., Sancak, Y.C. 2014.** Van kahvaltı salonlarında tüketime sunulan cacıkların mikrobiyolojik kalitesi. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(2): 31-35.
- Gürsoy, O. 2005.** Bazı probiyotik bakterilerin destek kültür olarak beyaz peynir üretiminde kullanımı. *Doktora Tezi*, s 258, EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir.
- Gürsoy, O., Gökçe, R., Con, A.H., Kınık, O. 2014.** Survival of *Bifidobacterium longum* and its effect on physicochemical properties and sensorial attributes of white brined cheese. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 65(7): 816-820.
- Hansen, C. 2002.** *Lactobacillus rhamnosus* in fermented milk products-F-3, method for counting probiotic bacteria, Technical Bulletin, (KMH/*Lactobacillus rhamnosus*-F-3doc/Jan2002/1:2.
- Hansen, C. 2005.** *L. acidophilus*, *L. casei* and *Bifidobacteria* in fermented milk products-guidelines, method for counting probiotic bacteria, *Bulletin F-6 LA LC BB*, March 2005/3, 8.
- Hekmat, S., Soltani, H., Reid, G. 2009.** Growth and survival of *Lactobacillus reuteri* RC-14 and *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 in yogurt for use as a functional food. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 10(2): 293-296.
- Hemaiswarya, S., Raja, R., Ravikumar, R., Carvalho, I.S. 2013.** Mechanism of action of probiotics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(1): 113-119.

- Hermann, M. 2014.** Probiotics for the immune system. [http://www.igliving.com/magazine/articles/IGL_2014-12_AR_Probiotics-for-the-ImmuneSystem.pdf#search=%22probiotics%20for%20the%20immune%20system%22-\(Erişim Tarihi: 17.07.2016\).](http://www.igliving.com/magazine/articles/IGL_2014-12_AR_Probiotics-for-the-ImmuneSystem.pdf#search=%22probiotics%20for%20the%20immune%20system%22-(Erişim Tarihi: 17.07.2016).)
- Heyman, M., Menard, S. 2002.** Probiotic microorganisms: how they affect intestinal pathophysiology. *Cell. Mol. Life Sci.*, 59(7): 1-15.
- Hopkins, M.J., Cummings, J.H., Macfarlane, G.T. 1998.** Inter-species differences in maximum specific growth rates and cell yields of bifidobacteria cultured on oligosaccharides and other simple carbohydrate sources. *J. Appl. Microbiol.*, 85(2): 381-386.
- Howarth, G.S., Wang, H. 2013.** Role of endogenous microbiota, probiotics and their biological products in human health. *Nutrients*, 5(1): 58-81.
- Htwe, K., Yee, K.S., Tin, M., Vandenplas, Y. 2008.** Effect of *Saccharomyces boulardii* in the treatment of acute watery diarrhea in Myanmar children: A randomized controlled study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 78: 214–216.
- Huq, T., Khan, A., Khan, R. A., Riedl, B., Lacroix, M. 2013.** Encapsulation of probiotic bacteria in biopolymeric system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(9): 909-916.
- Ingraham, J.L., Maaloe, O., Neidhardt, F.C. 1983.** Growth of the bacterial cell. *Sinauer Assoc., Inc., Sunderland, Mass*, 3: 126-152.
- International Dairy Federation. 1998.** Milk and milk products: enumeration of coliforms. IDF standard 73B, International Dairy Federation, Brussels.
- International Food Information Council Foundation. 2011.** Functional Foods. www.foodinsight.org/ (Erişim tarihi 15.11.2016).
- International Organization for Standardization. 2001.** ISO 8968-1/IDF 20-1: Milk—Determination of nitrogen content—Part 1: Kjeldahl method. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization. 2004.** ISO 5534/IDF 004: Cheese and processed cheese. Determination of the total solids content (Reference method). Ginebra.
- International Organization for Standardization. 2004.** ISO 6611/ IDF 94:2004: Milk and milk products-enumeration of colony forming units of yeasts and/or moulds-colony-count technique at 25°C. Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization. 2008.** ISO 2446:2008/IDF 226: Milk - Determination of fat content. Brussels, Belgium International Dairy Federation.
- International Organization for Standardization. 2009.** ISO 11870/ IDF 152:2009:Milk and milk products- determination of fat content-General guidance on the use of butyrometric methods.
- International Organization for Standardization. 2013.** ISO 4833-1:2013: microbiology of the food chain – horizontal method for the enumeration of microorganisms – part 1: colony count at 30 degrees C by the pour plate technique.
- Iqbal, M.Z., Qadir, M.I., Hussain, T., Janbaz, K.H., Khan, Y.H., Ahmad, B. 2014.** Probiotics and their beneficial effects against various diseases. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 27(2): 405-415.
- İnanç, N., Şahin, H., Çiçek, B. 2005.** Probiyotik Ve Prebiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri. *Erciyes Tıp Dergisi*, 27(3): 122-127.
- Jayalalitha, V., Dorai, R.P., Dhanalakshmi, B., Elango, A. 2011.** Yogurt with encapsulated probiotics. *Wayamba Journal of Animal Science*, 578X: 65-68.

- Joshi, S.S., Pandharbale, A.A., Shelke, S. 2015.** Probiotics and Periodontal Disease: A review. *Indian Journal of Dental Advancements*, 7(2): 136-142.
- Junaid, M., Javed, I., Abdullah, M., Gulzar, M., Younas, U., Nasir, J., Ahmad, N. 2013.** Development and quality assessment of flavored probiotic acidophilus milk. *J. Anim. Plant Sci.*, 23(5): 1342-1346.
- Kâhya, E. 2003.** İbn-i Sînâ -El-Kânû Fi't-Tıbb. Ankara: Atatürk Kültür Merkezi Yayını, 342 s.
- Kai, S.H.Y., Bongard, V., Simon, C., Ruidavets, J.B., Arveiler, D., Dallongeville, J., Wagner A., Amouyel, F.J. 2014.** Low-fat and high-fat dairy products are differently related to blood lipids and cardiovascular risk score. *European Journal of Preventive Cardiology*, 21(12): 1557-1567.
- Kailasapathy, K., Harmstorf, I., Phillips, M. 2008.** Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in stirred fruit yogurts. *LWT-Food Science and Technology*, 41(7): 1317-1322.
- Kara, A., Parlakay, A.Ö. 2011.** Probiyotiklerin anti-enfektif özellikleri:Sağlıklı kalmak için Probiyotikler&Prebiyotikler anlatılmayan tarihçe, Editör: Özen, M., İstanbul, Türkiye, s. 43-51.
- Karaçıl, M.Ş., Acartek, N. 2013.** Dünyada üretilen fermente ürünler: Tarihsel süreç ve sağlık ile ilişkileri. *U.Ü.Ziraat Fakülte Dergisi*, 27(2): 163-173.
- Kaur, B., Balgir, P.P., Kumar, B., Garg, N. 2010.** *Helicobacter pylori* infection: efficacy of probiotics and role of genome wide association studies. *iMedPub Journals*, 1: 3-4.
- Kavaz, A. 2006.** Ticari probiyotik kültür ile üretilen muzlu yoğurtların depolama süresince çeşitli niteliklerinin incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, AÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.
- Kim,H.J., Kim,H.Y., Lee, S.Y., Seo, J.H., Lee, E., Hong, S.J. 2013.** Clinical efficacy and mechanism of probiotics in allergic diseases. *Korean J. Pediatr.*, 56(9): 369-376.
- Klu, Y. A. K., Williams, J. H., Phillips, R. D., Chen, J. 2012.** Survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG as influenced by storage conditions and product matrixes. *J. Food Sci.*, 77(12): M659-M663.
- Koçak, K. 2013.** Tüketime Sunulan Yoğurtlarda Bazı Katkı Maddelerinin (Nişasta, Jelatin, Natamisin) Kullanımı ve Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesine Yönelik Piyasa Araştırması. *Yüksek Lisans Tezi*, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Kos, B., Suskovic, J., Vukovic, S., Simpraga, M., Frece, J., Matosic, S. 2003.** Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *J. Appl. Microbiol.*, 94(6): 981-987.
- Kuş, H. 2010.** İnsan orjinli probiyotik bakteriler kullanarak probiyotik ayran üretimi. *Yüksek Lisans Tezi*, NKÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Kurugöl, Z., Aslan, A. 2011.** Seyahat ishallerinin önlenmesinde probiyotik kullanımı: Sağlıklı kalmak için probiyotikler&prebiyotikler anlatılmayan tarihçe, Editör: Özen, M.; İstanbul,Türkiye, s. 117-122.
- Küçüköner, E., Tarakçı, Z., Sağdıç, O. 2006.** Physicochemical and microbiological characteristics and mineral content of herbbycacik, a traditional Turkish dairy product. *J. Sci. Food Agric.*, 86(2): 333-338.

- 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(2): 65-69.
- Lawande, S. 2012.** Probiotics for management of periodontal disease: A novel therapeutic strategy?. *IOSR J. Pharm.*, 2(4): 41-46.
- Leatherhead Food Research, 2011.** <http://www.nutritionaloutlook.com/news/leatherhead-functional-foods-market-grow-228-2014-> (Erişim tarihi: 14.10.2016).
- Leyer, G.Y., Li, S., Mubasher, M.E., Reifer, C., Ouwehand, A.C. 2009.** Probiotic effects on cold and influenza-like symptom incidence and duration in children. *Pediatrics*, 124(2): 172-181.
- Li, S., Walsh, H., Gokavi, S., Guo, M. 2012.** Interactions between *Lactobacillus acidophilus* strains and the starter cultures, *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* during fermentation of goats' milk. *Afr. J. Biotechnol*, 11(51): 11271-11279.
- Liong, M.T. 2008.** Roles of probiotics and prebiotics in colon cancer prevention: Postulated mechanisms and in-vivo evidence. *Int. J. Mol. Sci.*, 9(5): 854-863.
- Liptakova, L.V.A.M.D. 2008.** Characterization of the growth of *Lactobacillus rhamnosus* GG in milk at suboptimal temperatures. *J. Food Nutr. Res.*, 47(2): 60-67.
- Mahmoudi, F., Miloud, H., Bettache, G., Mebrouk, K. 2013.** Identification and physiological properties of *Bifidobacterium* strains isolated from different origin. *Journal of Food Science and Engineering*, 3(4): 196-206.
- Maier, R.M. 2008.** Bacterial growth. *Review of Basic Microbiological Concepts*, 37-54.
- Malaguarnera, M., Vacante, M., Condorelli, G., Leggio, F., Rosa, M.D., Motta, M., Malaguarnera, G., Alessandria, I., Rampello, L., Chisari, G. 2013.** Probiotics and prebiotics in the management of constipation in the elderly. *Acta Med. Mediterr.*, 29: 791-798.
- Mani-López, E., Palou, E., López-Malo, A. 2014.** Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.*, 97(5): 2578-2590.
- Mantovani, H.C., Cruz, A.M.O., Paiva, A.D. 2011.** Bacteriocin activity and resistance in livestock pathogens. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, Editor: A. Méndez-Vilas, Viçosa, Brazil, s. 853-863.
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., Smid, E. J. 2017.** Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 44: 94-102.
- Marhamatizade, M.H. 2015.** Effect of garlic and dill extract on yoghurt probiotic bacteria (*Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*) and their role in rat's triglycerides and cholesterol. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences* 4(3): 10-15.
- Martirosyan, D.M., Singh, J. 2015.** A new definition of functional food by FFC: what makes new definition unique. *Functional Foods in Health and Disease*, 5(6): 209-223.
- Mazahreh, A.S., Ershidat, T.M. 2009.** The benefits of lactic acid bacteria in yogurt on the gastrointestinal function and health. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(9): 1404-1410.

- Meena, G.S., Gupta, S., Majumdar, G.C., Banerjee, R. 2011.** Growth characteristics modeling of *Bifidobacterium bifidum* using RSM and ANN. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(6): 1357-1366.
- Meleigy, S. A., Hendawy, W.S. 2009.** Isolation and characterization of lactic acid bacteria (LAB) produced exo-cellular polysaccharide. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 2(4): 697-716.
- Michael, M., Phebus, R. K., Schmidt, K. A. 2015.** Plant extract enhances the viability of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* in probiotic non-fat yogurt. *Food Science Nutrition*, 3(1): 48-55.
- Mikov, M.M., Stojancevic, M.P., Bojic, G.M. 2014.** Probiotics as a promising treatment for inflammatory bowel disease. *Hospital Pharmacology*, 1(1): 52-60.
- Minh, N.P. 2014.** Investigation of Spirulina supplementation into UHTmilk and modified soymilk for yoghurt fermentation. *Asian Journal of and Food Agro-Industry*. 7(1): 19-34.
- Mohammadi, R., Sohrabvandi, S., Mohammad Mortazavian, A. 2012.** The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks. *Eng. Life Sci.*, 12(4): 399-409.
- Motamayel, F. A., Hassanpour, S., Alikhani, M. Y., Poorolajal, J., Salehi, J. 2013.** Antibacterial effect of eucalyptus (globulus Labill) and garlic (*Allium sativum*) extracts on oral Cariogenic bacteria. *J. Microbiol. Res. Rev.*, 1(2): 12-17.
- Mukhopadhyay, B., Ganguly, N.K. 2014.** The unexplored role of probiotics on the parasitic pathogens. *Food Nutr Sci*, 5(22): 2177-2184.
- Nes, I.F., Gabrielsen, C., Brede, D.A., Diep, D.B. 2015.** Novel Developments in Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*, Ed.: Mozzi, F., Raya, R.R., Vingolo, G.M., Willey Blackwell, USA, pp: 80-93.
- Ng, E.W., Yeung, M., Tong, P.S. 2011.** Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. *I. J. Food Microbiol.*, 145(1): 169-175.
- Oelschlaeger, T.A. 2010.** Mechanisms of probiotic actions—A review. *Int. J. Med. Microbiol.*, 300(1): 57–62.
- Ohashi, Y., Ushida, K. 2009.** Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. *Anim. Sci. J.*, 80(4): 361-371.
- Ohland, C.L., MacNaughton, W.K. 2010.** Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 298(6): G807–G819.
- Oraç, A., Akın, N. 2013.** Kolon kanserinin önlenmesinde probiyotikler. Uluslararası 2. Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, 7-10 Kasım, Konya, Türkiye.
- Orel, R. 2009.** Inflammatory bowel disease, intestinal microflora, prebiotics and probiotics. *International Journal of Sanitary Engineering Research*, 3(1): 36-48.
- O'sullivan, L., Ross, R. P., Hill, C. 2002.** Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, 84(5): 593-604.
- Otero, M.C., Macias, M.E.N. 2007.** Lactobacillus adhesion to epithelial cells from bovine vagina. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, 2(1): 749-757.
- Önal, D., Beyath, Y., Aslım, B. 2005.** Probiyotik bakterilerin epitel yüzeylere yapışması. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(9): 1-10.
- Özden, A. 2008.** Yoğurdun Tarihi. *Güncel Gastroenteroloji*, 12(2):128-133.

- Özen, M. 2011.** Sağlıklı kalmak için Probiyotikler&Prebiyotikler: Anlatılmayan Tarihçe. *Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, Türkiye, 6 s.*
- Öztürk, F.Ş.Ö. 2010.** Yoğurdun sulandırma oranı ve granülerin yıkama sayısının yayık tereyağının nitelikleri üzerine etkisi. *Doktora Tezi, AÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.*
- Pak, D., Muthaiyan, A., Story, R.S., O'Bryan, C.A., Lee, S.O., Crandall, P.G., Ricke, S.C. 2013.** Fermentative capacity of three strains of *Lactobacillus* using different sources of carbohydrates: in vitro evaluation of synbiotic effects, resistance and tolerance to bile and gastric juices. *J. Food Res., 2(1): 158-167.*
- Parker, R.B. 1974.** Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim. Nutr. Health, 29(29): 4-8.*
- Pithva, S., Ambalam, P., Dave, J.M., Vyas, B.R.M. 2011.** Antimicrobial peptides of probiotic *Lactobacillus* strains. Science against microbial pathogens: *Communicating Current Research and Technological Advances, 1: 987-991.*
- Purchiaroni, F., Tortora, A., Gabrielli, M., Bertucci, F., Gigante, G., Ianiro, G., Ojetti, V., Scarpellini, E., Gasbarr, A. 2013.** The role of intestinal microbiota and the immune system. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci., 17(3): 323-333.*
- Rada, V., Bartoňová, J., Vlková, E. 2002.** Specific growth rate of bifidobacteria cultured on different sugars. *Folia Microbiologica, 47(5): 477-480.*
- Rajput, I.R., Li, W.F. 2012.** Potential role of probiotics in mechanism of intestinal immunity. *Pak. Vet. J., 32(3): 303-308.*
- Ravishankar, T.L., Yadav, V., Tangade, P.S., Tirth, A., Chaitra, T.R. 2012.** Effect of consuming different dairy products on calcium, phosphorus and pH levels of human dental plaque: a comparative study. *Eur. Arch. Paediatr. Dent., 13(3): 144-148.*
- Reeta, K.S., Ankita, J., Ramadevi, N. 2015.** Fortification of yoghurt with health-promoting additives: A review. Research & Reviews: *Journal of Food and Dairy Technology, 3(3): 9-17.*
- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mattö, J., Mattila-Sandholm, T. 2000.** Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol., 84(3): 197-215.*
- Saccaro, D.M., Tamime, A.Y., Pilleggi, A.L.O., Oliveira, M.N. 2009.** The viability of three probiotic organisms grown with yoghurt starter cultures during storage for 21 days at 4°C. *Int. J. Dairy Technol., 62(3): 397-404.*
- Sağdıç, O., Küçüköner, E., Özçelik, S. 2004.** Probiyotik Ve Prebiyotiklerin Fonksiyonel Özellikleri. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 35 (3-4): 221-228,*
- Sahni, S., Tucker, K.L., Kiel, D.P., Quach, L., Casey, V.A., Hannan, M.T. 2013.** Milk and yogurt consumption are linked with higher bone mineral density but not with hip fracture: the Framingham Offspring Study. *Arch. Osteoporos, 8(1-2): 119-134.*
- Salminen, S., Nybom, S., Meriluoto, J., Collado, M.C., Vesterlund, S., El-Nezami, H. 2010.** Interaction of probiotics and pathogens-benefits to human health?. *Curr. Opin. Biotechnol., 21(2): 157-167.*
- Samona, A., Robinson, R.K. 1994.** Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. *Int. J. Dairy Technol., 47(2): 58-60.*
- Sanchez, M.M. 2013.** Influence of various health beneficial spices on some characteristics of yogurt culture bacteria and *Lactobacillus Acidophilus*, and sensory acceptability of spicy probiotic yogurt. *Doktora Tezi, University of Puerto Rico, San Juan, Puerto Rico.*

- Sanders, M.E. 1999.** Probiotics. *Food Technol.*, 53(11): 67-77.
- Sarowska, J., Krol, I.C., Ilow, B.R., Madrzak, M.F., Kmieciak, A.J. 2013.** The therapeutic effect of probiotic bacteria on gastrointestinal diseases. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 22(5): 759-766.
- Sarvari, F., Mortazavian, A.M., Fazei, M.R. 2014.** Biochemical characteristics and viability of probiotic and yogurt bacteria in yogurt during the fermentation and refrigerated storage. *Appl. Food Biotechnol.*, 1(1): 55-61.
- Schmalstieg, F.C., Goldman, A.S. 2008.** Ilya Illich Metchnikoff (1845-1915) and Paul Ehrlich (1854-1915): the centennial of the 1908 nobel prize in physiology or medicine. *J. Med. Biogr.*, 16(2): 96-104.
- Scholz-Ahrens, K.E. 2016.** Prebiotics, probiotics, synbiotics and foods with regard to bone metabolism. In *Nutritional Influences on Bone Health*, Springer International Publishing. pp. 153-167.
- Serger, O. 2010.** *Bifidobacterium bifidum* DN-173 010 içeren probiyotik meyveli yoğurt tüketen çocuklarda dental plak ve tükürükteki ağız-diş sağlığı ile ilgili bakterilerin araştırılması. *Doktora Tezi*, YÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pedodonti Anabilim Dalı, İstanbul.
- Sevilmiş, G. 2013.** Yükselen Trend: Fonksiyonel Gıdalar, *Ar&Ge Bülten*, 39-46.
- Shah, M.H. 1966.** The general principles of Avicenna's Canon of Medicine, *Naveed Clinic* 1: 292.
- Shah, N.P. 2006.** Health benefits of yogurt and fermented milks. In: Chandan, R.C. (eds.), *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*. 324-340.
- Shmueli, H., Domniz, N., Cohen, D. 2013.** Probiotics in the prevention of colorectal cancer. *Curr. Colorectal Cancer Rep.*, 9(1): 31-36.
- Shori, A.B. 2015.** The potential applications of probiotics on dairy and non-dairy foods focusing on viability during storage. *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, 4(4): 423-431.
- Souza, E.C., Azevedo, P.O.D.S.D., Domínguez, J.M., Converti, A., Oliveira, R.P.D.S. 2017.** Influence of temperature and pH on the production of biosurfactant, bacteriocin and lactic acid by *Lactococcus lactis* CECT-4434. *CyTA-Journal of Food*, 1-6.
- Soydemir, E. 2008.** Determination of whey-based medium requirements and growth characteristics for the production of yoghurt starter cultures. *Yüksek Lisans Tezi*, İYTE Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Anabilim Dalı, İzmir.
- Soysal, A., Kuzdan, C. 2011.** Parazitlere bağlı ishallerde probiyotik kullanımı: Sağlıklı kalmak için probiyotikler&prebiyotikler anlatılmayan tarihçe, Editör: Özen, M.; İstanbul, Türkiye, s. 123-131.
- Sonnenborn, U., Schulze, J. 2009.** The non-pathogenic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 – features of a versatile probiotic. *Microb. Ecol. Health Dis.*, 21: 122–158.
- Sulistijowati, R., Nurhajati, J., Amaliah, I. 2010.** The influence of giving various concentrations and method of inoculum *Lactobacillus acidophilus* according to immersion time for total *Escherichia coli* in swordfish stew (*Auxis Rochei*). *Biotech.* 72-84.
- Supavitpatana, P., Wirjantoro, T.I., Raviyan, P. 2010.** Characteristics and shelf-life of corn milk yogurt. *CMU. J. Nat. Sci.*, 9(1): 133-149.
- Sutherland, J., Miles, M., Hedderley, D., Li, J., Devoy, S., Sutton, K., Lauren, D. 2009.** In vitro effects of food extracts on selected probiotic and pathogenic bacteria. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 60(8): 717-727.

- Talwalkar, A., Kailasapathy, K. 2004.** The role of oxygen in the viability of probiotic bacteria with reference to *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Curr. Issues Intest. Microbiol.*, 5(1): 1-8.
- Tapiovaara, L. 2016.** Specific probiotics in the upper respiratory tract: Colonization, efficacy and safety with a focus on *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Doktora Tezi*, Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Helsinki, Finlandiya.
- Taş, E. 2008.** Probiyotik laktik asit bakterileri ve baharatların bazı gıda patojenleri üzerine inhibisyon etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, ÇÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Adana.
- Tezer, H., Aykan, H.H. 2011.** Bakteriyel İshallerde Probiyotik Kullanımı:Sağlıklı kalmak için Probiyotikler&Prebiyotikler anlatılmayan tarihçe, Editör: Özen, M., İstanbul, Türkiye, s. 133-143.
- Tharmaraj, N., Shah, N. P. 2004.** Survival of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium animalis* and *Propionibacterium* in cheese-based dips and the suitability of dips as effective carriers of probiotic bacteria. *Int. Dairy J.*, 14(12): 1055-1066.
- Thushara, R.M., Gangadaran, S., Solati, Z., Moghadasian, M.H. 2016.** Cardiovascular benefits of probiotics: a review of experimental and clinical studies. *Food Funct.*, 7(2): 632-642.
- Tonguç, İ.E. 2006.** Probiyotik ayran üretimi üzerine bir araştırma. EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Süt Teknolojisi Ana Bilim Dalı, *Yüksek Lisans Tezi*, İzmir.
- Tsai, C.W., Chen, H.W., Sheen, L.Y., Lii, C.K. 2012.** Garlic: Health benefits and actions. *BioMedicine*, 2(1): 17-29.
- Tsiraki, I.M., Savvaidis, N.I. 2014.** Citrus extract or natamycin treatments on 'Tzatziki'-A traditional Greek salad. *Food Chem.*, 142: 416-422.
- Tuomola, E.M., Ouwehand, A.C., Salminen, S.J. 1999.** The effect of probiotic bacteria on the adhesion of pathogens to human intestinal mucus. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 26(2): 137-142.
- Tümgör, G., Turgut, M. 2011.** Çocukluk çağı antibiyotik ishallerinde probiyotik kullanımı: Sağlıklı kalmak için probiyotikler&prebiyotikler anlatılmayan tarihçe, Editör: Özen, M.; İstanbul,Türkiye, s. 61-70.
- Türk Gıda Kodeksi, 2009.** "Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği." Resmi Gazete 27143.
- Usta, M., Urgancı, N. 2014.** Çocukluk çağında probiyotik kullanımı. *Journal of Current Pediatrics/Guncel Pediatri*, 12(2): 88-94.
- Valente, C., Aboua, G., Plessis, S.D. 2014.** Garlic and its effects on health with special reference to the reproductive system, *Antioxidant-Antidiabetic Agents and Human Health*, 259-277.
- Valik, L., Medvedova, A., Liptakova, D. 2008.** Characterization of the growth of *Lactobacillus rhamnosus* GG in milk at suboptimal temperatures. *J. Food Nutr. Res.*, 47(2): 60-67.
- Vinderola, C. G., Bailo, N., Reinheimer, J. A. 2000.** Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. *Food Res. Int.*, 33(2): 97-102.
- Vinderola, C. G., Mocchiutti, P., Reinheimer, J. A. 2002.** Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. *J. Dairy Sci.*, 85(4): 721-729.

- Wang, H., Livingston, K.A., Fox, C.S., Meigs, J.B., Jacques, P.F. 2013.** Yogurt consumption is associated with better diet quality and metabolic profile in American men and women. *Nutr. Res.*, 33(1): 18-26.
- Weerathilake, W.A.D.V., Rasika, D.M.D., Ruwanmali, J.K.U., Munasinghe, M.A.D.D. 2014.** The evolution, processing, varieties and health benefits of yogurt. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(4): 1-10.
- Wickens, K., Black, P.N., Stanley, T.V., Mitchell, E., Fitzharris, P., Tannock, G. W., Purdie, G., Crane, J., Probiotic Study Group. 2008.** A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 122(4): 788-794.
- Widdel, F. 2007.** Theory and measurement of bacterial growth. *Di Dalam Grundpraktikum Mikrobiologie*, 4(11): 1-11.
- Wim, J.M.E. 2014.** Selection of starters for flavour formation in dairy foods. *New Food*, 17(2): 16-19.
- Yabancı, N., Şimşek, I. 2007.** Üniversite öğrencilerinin probiyotik ürün tüketim durumları. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6(6): 449-454.
- Yalnızoğlu, T. 2012.** Probiyotik yoğurt tüketiminin dişeti sağlığı üzerine etkisinin incelenmesi. *Doktora Tezi*, MÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
- Yaşar, B., Kurdaş, O.Ö. 2009.** Probiyotikler ve gastrointestinal system (Probiyotik teriminin tarihçesi ve tanımı). *Güncel Gastroenteroloji*, 13(1): 23-28.
- Yıldırım, Ç., Kökbaş, C., Sezer, Z., Çağdaş, I. Ş. I. K., Güzeler, N. (2014).** Yogurt, Yogurt-Based Products and Their General Usages. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri*, 6(6): 1063-1066.
- Yılmaz, L. 2006.** Yoğurt benzeri fermente süt ürünleri üretiminde farklı probiyotik kültür kombinasyonlarının kullanımı. *Doktora Tezi*, UÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa.
- Yılmaz-Ersan, L., Kurdal, E. 2014.** The production of set-type-bio-yoghurt with commercial probiotic culture. *Int. J. Chem. Eng. Appl.*, 5(5): 402-408.
- Yurdakök, M. 2013.** Yoğurdun öyküsü, probiyotiklerin tarihi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 56(1): 43-60.
- Yüksel, H. 2011.** Atopik dermatit ve probiyotikler: Sağlıklı kalmak için probiyotikler&prebiyotikler anlatılmayan tarihçe, Editör: Özen, M.; İstanbul, Türkiye, s. 103-115.
- Zacarchenco, P.B., Massaguer-Roig, S. 2006.** Properties of *Streptococcus thermophilus* fermented milk containing variable concentrations of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus*. *Braz. J. Microbiol.*, 37(3): 338-344.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Seda ALTUNTAŞ
Doğum Yeri ve Tarihi	: Osmangazi 1990
Yabancı Dili	: İngilizce
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)	
Lise	: Bursa Gazi Anadolu Lisesi 2004-2008
Lisans	: Ege Üniversitesi 2008-2012 Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
Yüksek Lisans	: Uludağ Üniversitesi 2014-2017 Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl	
	Bursa Teknik Üniversitesi Doğa Bilimleri Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği/Araştırma Görevlisi 2017-Devam ediyor
	Sütaş A. Ş. Üretim Mühendisi 2012-2016
İletişim (e-posta)	: seda.altuntas@yandex.mail
Yayımları	
	Altuntaş, S. Meral, H. 2015. Süt Endüstrisinde Moleküler Metotlar İle Mikrobiyal Tanı,9.Gıda Mühendisliği Kongresi, 12-14 Kasım 2015,Selçuk İzmir
	Altuntaş, V. Altuntaş, S. Gök, M. 2016. Machine Learning Techniques for Colony Classification, International Conference on Education in Mathematics, Science & Technology, 19-22. Mayıs.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU

Yazar Adı Soyadı	Seda ALTUNTAŞ
Tez Adı	Cacık Üretiminde Probiyotik Bakteri Kullanım Olanaklarının Araştırılması
Enstitü	Fen Bilimleri
Anabilim Dalı	Gıda Mühendisliği
Tez Türü	Yüksek Lisans
Tez Danışman(lar)ı	Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU
Çoğaltma (Fotokopi Çekim) izni	<input type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input type="checkbox"/> Tezimin sadece içindekiler, özet, kaynakça ve içeriğinin % 10 bölümünün fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input checked="" type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin vermiyorum
Yayımlama izni	<input type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin Veriyorum

Hazırlamış olduğum tezimin belirttiğim hususlar dikkate alınarak, fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere Uludağ Üniversitesi Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı tarafından hizmete sunulmasına izin verdiğimi beyan ederim.

Tarih :05.07.2017

İmza :

