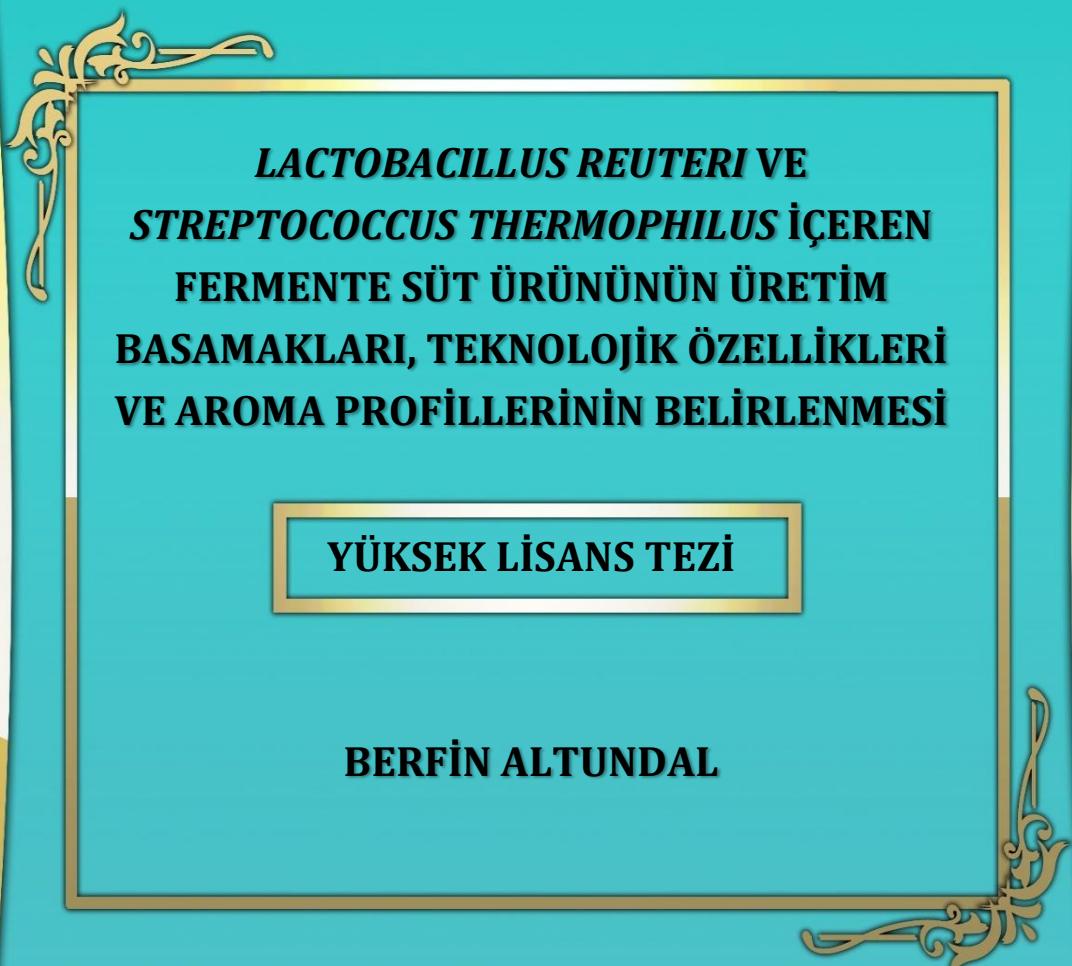




T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TR, Balıkesir University, Institute of Health Sciences



Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Bilim Alan Kodu: 10102.10



BALIKESİR
2023

T.C.

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*LACTOBACILLUS REUTERI VE STREPTOCOCCUS
THERMOPHILUS İÇEREN FERMENTE SÜT ÜRÜNÜNÜN
ÜRETİM BASAMAKLARI, TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİ VE
AROMA PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ*

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BERFİN ALTUNDAL

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. HAKAN TAVŞANLI

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Bilim Alan Kodu: 10102.10

BALIKESİR
2023



**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



TEZ KABUL VE ONAY

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde **Berfin ALTUNDAL** tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış olan

“Lactobacillus reuteri ve Streptococcus thermophilus İçeren Fermente Süt Ürününün Üretim Basamakları, Teknolojik Özellikleri ve Aroma Profillerinin Belirlenmesi”

başlıklı tez çalışması,
Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki juri tarafından
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 06 / 01 / 2023

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Osman İrfan İLKHAK
Balıkesir Üniversitesi
(Başkan)

Doç. Dr. Hasan TAVŞANLI
Balıkesir Üniversitesi
Üye (Danışman)

Doç. Dr. Tülay Elal MUŞ
Uludağ Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Yüksek Lisans Tezi,
sınav juri üyeleri tarafından imzalanarak 06 / 01 /2023 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Osman İrfan İLKHAK
Enstitü Müdürü

BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğim,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıpları kabullendiğimi **beyan ederim**.

06/01/2023

Berfin ALTUNDAL

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, araştırılması ve yürütülmESİ sırasında olduğu kadar lisansüstü eğitimim boyunca mesleki bilgi ve deneyimlerinin yanı sıra hayat tecrübeleri ile yoluma her daim ışık tutan, her konuda yardımcı olan saygıdeğer danışman hocam Sayın Doç. Dr. Hakan TAVŞANLI' ya,

Lisansüstü eğitimimde bana bilimsel katkılarını sunan anabilim dalımız öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Osman İrfan İLHAK'a, Sayın Doç. Dr. Mukadderat GÖKMEN' e, Arş. Gör. Adem ÖNEN' e, Doktora öğrencisi Tevhide Elif GÜNER' e

Ayrıca bugünlere gelmemi sağlayan, hayallerimi gerçekleştirmem konusunda daima destekçim olan aileme ve yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımда olan Halil ÜLKE' ye sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLOLAR DİZİNİ.....	x
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Fermantasyon.....	4
2.2. Fermente Gıdaların İnsan Sağlığına Faydaları.....	7
2.3. Laktik Asit Bakterileri.....	7
2.3.1. Laktik Asit Bakterilerinde Fermantasyon.....	9
2.3.1.1. <i>Lactobacillus</i> spp.....	10
2.3.1.2. <i>Leuconostoc</i> spp.....	11
2.3.1.3. <i>Pediococcus</i> spp.....	12
2.3.1.4. <i>Streptecoccus</i> spp.....	12
2.3.1.5. <i>Enterococcus</i> spp.....	13
2.3.1.6. <i>Weissella</i> spp.....	13
2.3.2. Laktik Asit Bakterilerinin Metabolizması.....	14
2.3.3. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Metabolik Ürünler.....	14
2.3.3.1. Organik Asitler.....	14
2.3.3.2. Bakteriyosinler.....	15
2.3.3.3. Hidrojen Peroksit.....	15
2.3.3.4. Yağ Asitleri.....	16
2.4. Süt Ürünleri Fermantasyonunda Oluşan Ana Aroma Bileşikleri.....	16
2.4.1. Karbonil Bileşikler.....	17
2.4.1.1. Asetaldehit.....	17
2.4.1.2. Laktik Asit.....	17
2.4.1.3. Diasetil ve Asetoin.....	18

2.4.1.4. Etanol.....	18
2.4.1.5. Aseton ve Bütanon-2.....	18
2.5. Probiyotik Mikroorganizmalar.....	19
2.5.1. Probiyotik Mikroorganizmaların Faydaları.....	20
2.5.2. Probiyotik Mikroorganizmaların Etki Mekanizmaları.....	21
2.5.3. <i>Lactocillus reuteri</i> ' nin Taksonomisi ve Tanımlanması.....	22
2.5.3.1. <i>Lactobacillus reuteri</i> ' nin Fizyolojik Özellikleri.....	23
2.5.3.2. Gıda Güvenliği ve Tolerans Düzeyleri Yönünden <i>Lactobacillus reuteri</i> ' nin Önemi.....	25
2.5.3.3. Fonksiyonel Gıdalarda <i>Lactobacillus reuteri</i> Kullanımı.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Gereçler.....	27
3.1.1. Kullanılan Malzemeler ve Kimyasal Maddeler.....	27
3.1.1.1. Laktoz Çözeltisi.....	28
3.1.1.2. Gram Boyama Çözeltileri.....	28
3.2. Yöntem.....	28
3.2.1. Kimyasal Analizler.....	29
3.2.1.1. Sütün Kimyasal Analizi.....	29
3.2.1.2. Probiyotik Ürünün Su Aktivitesi	29
3.2.1.3. Probiyotik Üründe Protein Tayini.....	29
3.2.1.4. Probiyotik Ürünün pH Ölçümü.....	30
3.2.1.5. Probiyotik Ürünün Toplam Asitliği (Laktik Asit Cinsinden).....	30
3.2.1.6. Probiyotik Ürünün Yağ Oranı.....	31
3.2.1.7. Gram Boyama.....	31
3.2.2. Mikrobiyolojik Analiz.....	32
3.2.2.1. Örneğin Analize Hazırlanması.....	32
3.2.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı.....	32
3.2.2.3. Maya-Küf Sayımı.....	33
3.2.3. Organik Asit Tayini İçin Numune Hazırlama.....	33
3.2.3.1. Organik Asit Tayini.....	33
3.2.4. SPME Aroma Profili.....	34
4. BULGULAR.....	35
5. TARTIŞMA.....	39

5.1. Fizikokimyasal Analiz.....	39
5.2. Mikrobiyolojik Analiz.....	42
5.3. Organik Asit Çeşitliliği ve SPME Profili.....	44
5.3.1. Organik Asit Çeşitliliği.....	44
5.3.2. Aroma Profili.....	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	61

ÖZET

LACTOBACILLUS REUTERI VE STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS İÇEREN FERMENTE SÜT ÜRÜNÜNÜN ÜRETİM BASAMAKLARI, TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİ VE AROMA PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Bu çalışmada *L. reuteri* ve *S. thermophilus*' un sinerjik etkisinden yararlanılarak probiyotikli fermente süt ürünü üretilmiştir. Çalışma üç paralel olacak şekilde yürütülmüştür. Üretilen probiyotikli fermente süt ürünün örneklerine 1., 3., 7. ve 15. günlerinde fizikokimyasal analizler 24. saatinde ise mikrobiyolojik analizler uygulanmıştır. Ayrıca ürün örneklerinin aroma profili ve organik asit içeriği de incelenmiştir.

İlaç tüketimine karşı olan ön yargılardan, ilaç şeklinde kullanıma sunulan diyet destekleyici tablet ve kapsül tüketimini kısıtlamaktadır. Bundan dolayı probiyotiklerin tüketimi ancak, fermente süt ürünleri gibi ürünlerin içine starter kültürlerine ek olarak eklenmesi ile gıda probiyotik özellik kazandırılmasıyla sağlanmaktadır. Bu nedenle çalıştığımızın amacı insan diyetlerinde kullanılabilcek yeni bir probiyotikli fermente süt ürünü üretmektir.

Çalışmanın analiz sonuçlarına göre, 12 saat inkübasyondan sonra ürünün pH'sı kazeinin izoelektrik noktası olan 4.6' ya ulaşmıştır. Su aktivitesi 0.985, kuru madde içeriği %10.58, yağ oranı 1.8, protein değeri 4.03 olarak tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarında *L. reuteri* 10^9 kob/g, *S. thermophilus* 10^9 kob/g maya-küf sayısı ise <100 kob/g olarak saptanmıştır. Uçucu aroma bileşiklerinden asetik asit miktarı %10.56, etanol değeri %0.44, aldehit grubunda yer alan 2-metilbütanal değeri ise %32.97 olarak tespit edilmiştir. Organik asit analiz sonucunda ise laktik asit değeri 14.64 mg/g, asetik asit değeri 2.80 mg/g ve sitrik asit değeri 0.64 mg/g olarak saptanmıştır. Yeni probiyotikli fermente süt ürününün muhafazası süresince yapılan fizikokimyasal analizlerinde 1., 3., 7., ve 15. günlerde pH sırasıyla 4.36, 4.02, 3.57 ve 2.91, yağ oranı (%) sırasıyla 1.8, 1.8, 1.6 ve 1.4 ve protein değeri ise sırasıyla 4.03, 4.02, 4.02 ve 4.01 olarak tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarında ise 24. saatteki laktobacillus ve streptokok

sayıları $>10^9$ kob/ml, maya- küf sayısı ise <100 kob/g olarak saptanmıştır. Bu değerler ürünün 15 gün muhafaza süresi boyunca tüketileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak çalışmamız sonucunda ürettiğimiz probiyotikli fermentle süt ürünü Türk Gıda Kodeksi probiyotik kabul edilme şartlarını sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: *L. reuteri*, probiyotik ferment süt ürünü, *S. thermophilus*

ABSTRACT

PRODUCTION STEPS, TECHNOLOGICAL PROPERTIES AND DETERMINATION OF AROMA PROFILES OF FERMENTED MILK CONTAINING *LACTOBACILLUS REUTERI* AND *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS*

In this study, a probiotic fermented milk product was produced by utilizing the synergistic effect of *L. reuteri* and *S. thermophilus*. The study was carried out in three parallels. Physicochemical analyzes were performed on the 1st, 3rd, 7th and 15th days of the probiotic fermented milk product samples and microbiological analyzes were performed at the 24th hour. In addition, the aroma profile and organic acid content of the product samples were also examined.

Prejudices against drug consumption restrict the consumption of dietary supplements and capsules, which are offered as drugs. Therefore, the consumption of probiotics can only be achieved by adding probiotic properties to the food by adding them to the starter cultures in products such as fermented milk products. Therefore, the aim of our study is to produce a new probiotic fermented milk product that can be used in human diets.

According to the analysis results of the study, the pH of the product reached 4.6, which is the isoelectric point of casein, after 12 hours of incubation. The water activity was 0.985, the dry matter content was 10.58%, the oil rate was 1.8, and the protein value was 4.03. In the microbiological analysis results, *L. reuteri* 10^9 cfu/g, *S. thermophilus* 10^9 cfu/g yeast-mould count was <100 cfu/g. In the analysis of aroma profiles, the amount of acetic acid, which is one of the volatile aroma compounds, was determined as 10.56%, the value of ethanol as 0.44%, and the value of 2-methylbutanal in the aldehyde group as 32.97%. As a result of the organic acid analysis, the lactic acid value was 14.64 mg/g, the acetic acid value was 2.80 mg/g and the citric acid value was 0.64 mg/g. In the physicochemical analyzes performed during the storage of the new probiotic fermented milk product, the pH was 4.36, 4.02, 3.57 and 2.91, respectively, the fat content (%) was 1.8, 1.8, 1.6 and 1.4, and the protein value on the 1st, 3rd, 7th, and 15th days. 4.03, 4.02, 4.02 and 4.01

respectively. In the microbiological analysis results, the lactobacillus and streptococcal counts at the 24th hour were found to be $>10^9$ cfu/ml, and the yeast-mold count as <100 cfu/g. These values show that the product can be consumed during the storage period of 15 days.

As a result, the new probiotic fermented milk product that we produced as a result of our study meets the conditions for acceptance of probiotics in the Turkish Food Codex.

Keywords: *L. reuteri*, probiotic fermented milk product, *S. thermophilus*

SİMGİ VE KISALTMALAR DİZİNİ

aw	:Water Activitiy (Su Aktivitesi)
FAO	:Food and Agriculture Organization (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)
FDA	:Food and Drug Administration (Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi)
FLA	:Fenil Laktik Asit
g	:Gram
GRAS	:Generally Recognized as Safe (Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen)
IDF	:International Dairy Federation (Uluslararası Sütçülük Federasyonu)
kob	:Koloni Oluşturan Birim
LA	:Laktik Asit Cinsinden Asidite
LAB	:Laktik Asit Bakterileri
LDL	:Low Density Lipoprotein
m	:Metre
ml	:Mililitre
M.Ö	:Milattan Önce
NIST	:National Institute of Standarts and Technology (Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü)
pH	:Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
RI	:Retention Index (Elde Tutma Endeksi)
TGK	:Türk Gıda Kodeksi
UHT	:Ultra Hight Temperature (Üst Düzey Sıcaklık)
QPS	:Qualified Presumption of Safety (Nitelikli Güvenilirlik Varsayımlı)
WHO	:World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Sekil 2.1. Probiyotik Mikroorganizmanın Kriterleri.....	20
Şekil 4.1. SPME Proilini Oluşturan Uçucu Aroma Bileşikleri.....	38

TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Çalışma Kapsamında Kullanılan Besi Yerleri.....	27
Tablo 4.1. Sütün Kimyasal Analiz Sonuçları.....	35
Tablo 4.2. Yeni Probiyotikli Fermente Ürün Örneklerinin Asitlik Tayini....	35
Tablo 4.3. Yeni Probiyotikli Fermente Ürün Örneklerinin 24. Saat Analizleri.	36
Tablo 4.4. Yeni Probiyotikli Fermente Ürün Örneklerinin Muhofazası Süresince Fizikokimyasal Analizleri.....	36
Tablo 4.5. Yeni Probiyotikli Fermente Ürün Örneklerinin Mikrobiyolojik Sonuçları.....	37
Tablo 4.6. Yeni Probiyotikli Fermente Ürününün Organik Asit Analiz Sonuçları.....	37
Tablo 4.7. Yeni Probiyotikli Fermente Ürün Örneklerinin SPME Profili....	38

1.GİRİŞ

İnsan vücutunun 300 m^2 ' si mukozal yüzey, 2 m^2 kadarı ise deri ile kaplıdır. İnsanların kendi hücrelerinden daha fazla sayıda mukozal ve deri yüzeylerinde yaşayan bakteri vardır. Bir insan yaklaşık olarak 10^{13} memeli hücre ve 10^{14} mikroorganizmadan oluşan karmaşık bir yapıya sahiptir (Ceyhan ve Aliç, 2012). İntestinal sistemde, ağız ve burun boşluklarında, ürogenital sistemde, deride yani insanın dış çevre ile bağlantılı olan kısımlarında ve mikroorganizmaların stabilitelerini koruyabildiği uygun koşullara sahip olan her yerinde çok çeşitlilikte ve sayıda mikroorganizma yerleşik olarak bulunmaktadır (Tok ve Aslim, 2007).

Doğum sırasında steril olan gastrointestinal sistem florası, yeni doğan döneminde kazanılmakta ve yaşam süresince değişmemektedir. Doğum esnasında yutulan annenin fekal ve vajinal florası yeni doğan florasının kaynağı olarak kabul edilmektedir (İnanç ve ark., 2005). Dış ortamdan yiyecek ve içeceklerle birlikte alınan kimyasal ajanlar ve patojen bakteriler flora kökenli抗原lerle daima yarış içindedir (Özden, 2005). Bu gastrointestinal flora; bakteriler, virüsler, protozoalar, mantarlar ve pek çok ökaryotik mikroorganizma topluluğu tarafından oluşturulan mikrobiyota olarak adlandırılan kendine özgü bir ekosistemdir (Aslan ve Altındış, 2017).

Gastrointestinal sistem florasının bir kısmını oluşturan probiyotik mikroorganizmalar bağırsak savunma bariyerini de doğal olarak koruduğuna inanılmaktadır. Bu nedenle yeterli miktarda probiyotik alımı ile gastrointestinal floranın güçlendirileceğine inanılmaktadır (Jones, 2002).

İnsan sağlığının korunması için gastrointestinal sistemin sağlıklı olması gerekmektedir. Gastrointestinal sistemin dengesini intestinal mikroflora sağlamaktadır. İntestinal mikroflorayı da güçlendirmek amacıyla probiyotik, sinbiyotik ve prebiyotikler gibi gıda katkı maddelerinden yararlanılmaktadır (Iacono ve ark., 2011; Yıldırım ve Altun, 2014).

Probiyotik mikroorganizmalar, yeterli oranda alındıklarında kişinin fizyolojsi ve sağlığı üzerine olumlu etkilerde bulunan canlı mikroorganizmalar olarak adlandırılmaktadır (Kızılaslan ve Solak, 2016). Mikrobiyotada probiyotiklerin önemli bazı avantajları vardır. Bu avantajlardan en önemlisi, organizmanın patojen ve apatojen mikroorganizmalar arasındaki dengeyi kendi normal fonksiyonu için sağlama etkisidir (Patel ve DuPont, 2015).

Probiyotik mikroorganizmalar bağırsak mikrobiyotasının dengesini sağlayarak laktobasil ve bifidobakteri miktarını artıtabilir. Patojen mikroorganizmaların gelişmesi için uygun olmayan ortam sağlayabilir. Sonuç olarak bağırsak florasını yeniden düzenleyebilir (Currò ve ark., 2017; Distrutti ve ark., 2016).

Ceşitli mikroorganizmalar probiyotik etkinlikleri açısından değerlendirilmiştir. Değerlendirilen bu mikroorganizmalar arasında laktik asit bakteri (LAB)' lerinden, *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. kapsamlı bir şekilde araştırılmış ve en yaygın kullanılan probiyotik mikroorganizmalar oldukları tespit edilmiştir. İlaçların küreselleşme çağında, probiyotik kavramı ve bunların terapötik ve profilaktik kullanımı geniş çapta kabul görmektedir. Gittikçe daha fazla bakteri suşunun, atopik, inflamatuar durumlar üzerindeki etkileri kanıtlandığından gelişmiş ülkelerde bu bakteri suşlarının probiyotik olarak kullanımı zamanla artış göstermektedir. Probiyotiklerin bağılıklıkla ilgili bozukluklarda kullanılmasının yanı sıra, enfeksiyonlara bağlı infantil ishal, bakteriyel vajinoz, idrar yolu enfeksiyonları, dış taşı, diyabet, kanserlerin tedavisinde ve ayrıca çeşitli antibiyotiklere ve laktoza karşı bağırsak mukozal toleransını artırmada etkili oldukları tespit edilmiştir (Dhama ve ark., 2016).

Tüketici isteklerine bağlı çeşitli probiyotik ürünler üretilmekte ve bu ürünler pazarlarda geniş yer kaplamaktadır. Fakat probiyotikli fonksiyonel gıdaların üretimini ve gelişimini sınırlayan bazı engeller mevcuttur. Bu engeller 3 grup altında toplanmaktadır:

1. Gıdanın üretim aşamasında meydana gelen engeller (kurutma, dondurma, yüksek sıcaklık, asidik ya da alkali ortam, yüksek basınç)

2. Tüketim sonrasında metabolizmanın neden olduğu engeller (safra tuzları, yüksek asidik ortam ve gastrointestinal sistem enzimleri)
3. Bakterinin sebep olduğu engeller (oksijen, anaerobik gelişme şartları, zengin besin maddeleri ihtiyacı ve çeşitliliği, pH, rekabetçi mikroorganizmaların sebep olduğu stres ortamı, inhibitör maddeler ve sıcaklık) (Anal ve Singh, 2007; Argin, 2007; Champagne ve Fustier, 2007; Gouin, 2004; Hsieh ve Ofori, 2007; Qi ve ark., 2006;).

Yukarıda bahsedilen özellikle üçüncü maddeden dolayı insanlar için önemli bir probiyotik mikroorganizma olan *Lactobacillus reuteri* (*L. reuteri*) suşunun tek başına süt ortamında üretilmesini imkânsız kılmaktadır. Bu durumdan çalışmamızda *L. reuteri* içeren fonksiyonel bir gıda üretimi için süt ortamında *Streptococcus thermophilus* (*S. thermophilus*)'un sinerjisinden ve laktozsuz süt ile karbonhidrat çeşitliliği sağlayarak probiyotikli fermentte süt ürününün üretilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fermantasyon

Bakteri, maya ve küfler tarafından sentezlenen enzimlerin etkisiyle, daha çok karbonhidratların parçalanma sürecine fermantasyon denir (Tekinşen ve Atasever, 1994). Fermantasyon, biyokimyasal yönden enerji elde etmek için organik bileşiklerin katabolizma ile indirgenmesi şeklinde de tanımlanabilmektedir (Klein ve ark., 2005). Fermantasyonla hücre ortamındaki amonyum ve şeker benzeri moleküller kompleks metabolik yöntem kullanarak arzu edilen son ürüne dönüştürür (Aran, 2014). Fermantasyon bilinen en eski gıda üretimi ve koruma metodlarından biridir. Ayrıca gıda muhafazasında kullanılan en ekonomik yöntem olması fermantasyonun en önemli avantajlarındandır. (Fox, 1993). Gıdanın üretimi ve korunmasının yanı sıra vitamin sentezi ve esansiyel aminoasit üretimiyle gıdaların besinsel değerini iyileştirmek amacıyla kullanılan fermantasyon yönteminin tarihçesi çok eskiye dayanmaktadır. Fermantasyona dair en eski kanıtlar milattan önce (MÖ) 6000' lerde Doğu Akdeniz ve Mezopotamya bölgesinde ortaya çıkmıştır. İnsanlık tarihi açısından önemli bir buluş olan fermento gıdalar lezzet bakımından daha çekici, korunma süresi daha uzun ve hammaddeden farklı bir ürün oluşumuna katkı sağlamıştır. Fermente gıdaların üretiminde mikroorganizmaların rol aldığı bilinmektedir. (Caplice ve Fitzgerald, 1999; Holzapfel, 1997; Ross ve ark., 2002).

Fermantasyon daha önce bilinmesine rağmen prosesi ancak 1850 yılında ortaya çıkan mikrobiyoloji bilimiyle anlaşılmıştır. Günümüzde ise farklı üretim metotları, mikroorganizmalar ve hammaddelerle üretilen fermento gıdalara yoğun bir ilgi mevcuttur. Dünya çapında 3500' ü aşan fermento ürünün üretimi öngörümektedir. Üretilen bu fermento ürünlerin antioksidan, probiyotik, antimikrobiyal ve kollestrol düşürücü özelliklere sahip olmaları ve fermantasyonda kullanılan LAB' lerin fonksiyonel özellikleri bu ürünlerin sağlığa daha faydalı hale getirmektedir (Blandino ve ark., 2003; Ehlers ve ark., 2011; Kabak ve Dobson, 2011; Karaçıl ve Acar, 2013; Tamang ve Kailasapathy, 2010).

Gıdaları bir nevi fiziksel ve kimyasal olarak bozan ve patojen mikroorganizmaların inhibisyonunda oldukça etkili bir yöntem olan fermantasyon sonucunda üründe özgün tat, tesktür, renk ve koku meydana gelmektedir. Süt ürünlerinin fermantasyonunda rol alan en yaygın LAB'leri; *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Leuconostoc* spp., ve *Enterococcus* spp.'dir. *Streptococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* ve *Enterococcus faecium* süt ve süt ürünlerinde asit sentezi, *L. dextranicum*, *L. cremoris* ve *S. lactis* subsp. *diacetylactis* ise lezzet ve aromanın şekillenmesinde faydalanan suşlardır (Tekinşen ve Atasever, 1994).

Temel prensip olarak fermantasyonun amacı karbonhidratların oksidasyonu, CO₂, alkol türevleri ve farklı organik asitlerin üretilmesidir. Ayrıca fermantasyonla birlikte ürünlerin besinsel değeri ve kalitesi de artmaktadır (Buttriss, 1997; Caplice ve Fitzgerald, 1999; Erçoşkun ve Ertaş, 2003; Holzapfel, 2002; Kabak ve Dobson, 2011; Özden, 2008).

Laktozu (süt şekeri) laktik aside dönüştüren böylece ortamın pH'sının düşmesini sağlayan laktik asit bakterileri diğer mikroorganizmaların gelişmesini de engellerler. Ayrıca laktik asit bakterileri antimikrobiyal aktiviteye sahip diasetil, reuterin ve bakteriyosin benzeri bileşiklerin sentezlenmesinden de sorumludurlar (Fernández ve ark., 2015; Ram ve Bhavadasan, 2002; Shibly ve Mishra, 2013).

Yoğurt, Mezopotamya'da keçinin ilk kez evcilleştirildiği çağda üretilmeye başlanmıştır. Modern süt ürünleri teknolojisi, sıcaklık artışına bağlı olarak hayvan derisinde muhafaza edilen sütün doğal olarak fermantasyona uğraması sonucu yoğurt ve benzeri süt ürünlerinin meydana gelmesiyle ortaya çıkmıştır. Üretimde kullanılan kabın değiştirilmemesi, sürekli fermente olmuş süte taze süt ekleyerek fermantasyonun tekrar sağlanması, daha önceden kalan ekşitilmiş sütün pihtlaştırma amacıyla kullanılması, tat ve aroma sağlamak için aside toleranslı LAB'lerin kullanılması fermente süt ürünlerinin gelişim sürecinde rol oynamaktadır (Tamime ve Robinson, 2007).

Özellikle laktik asit bakterileri olmak üzere bazı bakteriler tarafından sütün fermente edilmesiyle oluşan ve kendine özgü lezzeti, kokusu ve kıvamı olan ürünlere

“fermente süt ürünleri” denilmektedir (Taşkın ve Bağdatlıoğlu, 2011). Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (2009)' ne göre ise sütün belirli mikroorganizmalarla fermantasyonu sonucu pH'ının düşmesiyle oluşan ve yeterli sayıda canlı mikroorganizma içeren süt ürününe “fermente süt ürünü” denilmektedir (Türk Gıda Kodeksi [TGK], 2009).

Dünya çapında isimleri farklımasına rağmen benzer özelliklere sahip 400' den fazla süt ürünü vardır. Peynir, yoğurt, krema ve tereyağı yaygın tüketilen bu süt ürünlerine örnek verilebilir. Beğenilen tatları ve insan sağlığı üzerine olumlu etkileri olduğundan dolayı fermente süt ürünlerinin popülerliği gittikçe artış göstermektedir (Karaçıl ve Acar, 2013; Panesar, 2011; Yücel Şengün, 2011;).

Fermantasyon sürecinde süt bileşenlerinde oluşan biyokimyasal değişiklikler sonucu fermente süt içeriğindeki besin değerleri artış göstermektedir. Bundan dolayı fermente süt ürünleri son zamanlarda fonksiyonel gıdalar içerisinde yer almaktadır (Aran, 2014).

L. casei, *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. rhamnosus* ve *L. johnsonii* gıda ürünlerinde kullanılan probiyotik laktobasil suşlarıdır. Patojen mikroorganizmaların inhibisyonunda probiyotik mikroorganizmaların kullandığı farklı mekanizmalarının olduğu bilinmektedir. Bu mekanizmaların en önemlileri, organik asit sentezleyerek gidanın asitliğini artırmak, hidrojen peroksit, etanol, diasetil, karbondioksit ve antimikrobiyal özellikle düşük moleküller ağırlıklı peptidleri içeren bakteriyosin sentezlemek, reseptörlere tutunmak şartıyla besin kaynakları için yarışmak ve serbest radikaller gibi bileşikleri sentezlemektir (Arat Maden ve Altun, 2012; Ayhan ve ark., 2005; Coşansu ve ark., 2007; Menteş ve ark., 2004). LAB, bakteriosin sentezleyerek kendi türlerinin devamlılığı için tehdit oluşturan yakın akraba türlerine karşı bakterisit veya bakteriyostatik etki göstermektedir (Chen ve Hoover, 2003; Gillor ve ark., 2005). Ayrıca bakteriosinler doğal ve güvenilir olmalarından dolayı gıda üretiminde yararlanılmakta ve böylece gıdaların bozulmaları da önlenmektedir. LAB'lerin sentezlediği asidophilin, nisin ve reuterin benzeri maddeler patojen mikroorganizmalara etki eden antimikrobiyal metabolitlerdir. *L. reuteri* tarafından sentezlenen düşük moleküllü metabolitlerden olan reuterin (3-OH-propionaldehit) geniş spektrumlu maya, bakteri ve küfler

üzerine oldukça etkili olan antimikrobiyal yapıda bir metabolittir (Holzapfel, 2002). Ekşi hamurdan izole edilen ve *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* üzerine etkisi incelenen *L. reuteri* CRL 1100’ün bu türleri inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Gerez ve ark., 2009). Gerez ve arkadaşlarının yaptıkları bir başka çalışmada ise LAB’lerin antifungal faaliyetlerinin LAB’ler tarafından sentezlenen asidik asit, laktik asit ve 3-fenillaktik asit (FLA)’ten kaynaklandığını tespit etmişlerdir (Gerez ve ark., 2010). Kılıç (2001)’a göre LAB’nin antimikrobiyal etkileri peptit olmayan inhibitör maddelerin sentezi ve pH düşüşünün yanı sıra antibakteriyel aktivitesi olan organik asit ve hidrojen peroksit içeren bileşiklerin sentezlenmesi ve bakteriosinlerin oluşumuyla ortaya çıktığı saptanmıştır.

2.2. Fermente Gıdaların İnsan Sağlığına Faydaları

Yapılan birçok çalışma sonucu laktik asit bakterilerinin iyileştirici, koruyucu ve besleyici özellikleri tespit edilmiştir (Fernández ve ark., 2015; Ram ve Bhavadasan, 2002; Shibly ve Mishra, 2013). Fermente bir süt ürünü olan yoğurdun tüketimi ile kolon kanseri, laktoz intoleransı, bağırsak hastalığı, diyare, diğer bakteriyel enfeksiyonlar ve inflamatuar benzeri gastrointestinal sistemle ilgili hastalıkların engellenebileceği bildirilmiştir (Mazahreh ve Ershidat, 2009; Shah, 2013). Antimikrobiyal, antihipertansif, antikarsinojenik, antimutajenik özellikte, mineral metabolizması üzerine yararlı, LDL (Low Density Lipoprotein) seviyesini ve gıda allerjisi belirtilerini azalttığı belirtilmiştir (Crowley ve ark., 2013; Schnürer ve Magnusson, 2005). Özellikle günümüzde insan sağlığı üzerine gastrointestinal floranın ya da daha doğru ifade ile bağırsak mikrobiyotasının etkilerine yönelik yapılan çalışmaların sonuçları, probiotik mikroorganizmaların doğal kaynağı olan ferment gidalara olan ilgiyi de artırmaktadır.

2.3. Laktik Asit Bakterileri

İlk defa LAB’lerin tanımlanmasında koliform mikroorganizmalarla sütü koagüle ve fermente etmeleri özelikleri rol oynamıştır. Ancak laktobasil’lerin 1901’de Gram (+) şeklinde ifade edilmesiyle bu mikroorganizmalar koliform grup

bakterilerden ayrılmıştır (Stiles ve Holzapfel, 1997). Orla Jansen tarafından 1919'da yapılan tanımlamaya göre LAB'ler sporsuz, çubuk ya da kok biçiminde hareketsiz, katalaz (-), Gram (+), yüksek alkol ve karbonhidrat fermantasyonu sonucu laktik asit sentezleyen mikroorganizmalardır (Gobbetti ve ark., 2005; Stiles ve Holzapfel, 1997). Genellikle mezofil olan LAB'leri üreyebilmek için pürin ve primidin bazlarına, aminoasit ve B vitaminlerine gereksinim duyarlar. Bazı LAB türleri zayıf lipolitik ve proteolitik özellik gösterebilmektedir (Caplice ve Fitzgerald, 1999).

İlk zamanlarda LAB'lerin sınıflandırılması morfolojik, fizyolojik ve farklı pH, sıcaklık aralığının yanı sıra tuz yoğunluklarında gelişmesi gibi biyokimyasal özelliklerine göre yapılmıştır (Gobbetti ve ark., 2005). Günümüzde moleküler tanı yöntemlerinin de kullanılması ile LAB'leri *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Lactococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pediococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Carnobacterium* spp., *Tetragenococcus* spp., *Vagococcus* spp., *Aerococcus* spp., *Alloiococcus* spp. ve *Weisella* spp. gibi toplam 12 cinsden oluşan taksonomi kullanılmaktadır (Büyükkılıç, 2020; Endo ve Okada, 2005; Stiles ve Holzapfel, 1997; Tangüler ve Erten, 2006). Bu cinsler içerisinde daha çok *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Enterococcus* spp. ve *Leuconostoc* spp.'den süt ürünlerinde starter kültür şeklinde yaralanılmaktadır (Özer, 2007).

LAB'lerinin en ideal gelişme aralıkları 35 ila 45°C aralığıdır. 3.2 ile 9.6 pH değerleri arasında üreyebilen LAB'lerin üreyebildikleri en iyi pH aralığı ise 5.5-6.6'dır. Tuz, etanol, düşük su aktivitesi, ozmotik basınç ve safraya karşı dirençli bazı türleri vardır. Çeşitli çevre şartlarına uyum sağlamalarının en önemli nedeni çeşitli ortamlarda bulunmaları ile ilgilidir (Ahi, 2011; Kazancıgil, 2018; Kezer, 2019; Önlü, 2018).

LAB'ler glikozu çeşitli metabolik yollarla kullanıp birbirinden farklı son ürünler sentezlemektedirler. Bunun nedeni LAB'lerin fizyolojik ve genetik çeşitlilikleridir. Fermantasyon sonucunda laktik asit sentezleyen türlerine homofermentatif, heksoz şekerlerin fermantasyonu sonucu laktik asidin yanı sıra etanol ve karbondioksit sentezleyen türlere heterofermentatif LAB'ler denir (Wood ve Holzapfel, 1995).

İnsan ve hayvan sağlığına yararlı bakteriler şeklinde bilinen ve FDA (Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından GRAS (Genel Olarak Güvenli Kabul Edilir) statüsünde bulunan LAB' ler biyokontrol ajanları şeklinde kullanılmaktadır. Ayrıca doğal gıda koruyucularına gösterilen yoğun ilgi ve LAB' lerin Avrupa Birliği tarafından QPS (Nitelikli Güvenilirlik Varsayımlı) şeklinde tanımlanması biyokontrol ajanlarına olan ilgiyi arttırmıştır (Crowley ve ark., 2013; Omak Keskin, 2020).

Soy ve tür bakımından çok çeşitli olan LAB' ler yaygın olarak süt, et, tahıllar ve bitkilerde bulunurlar (Pfeiler ve Klaenhammer, 2007). LAB' ler süt ürünleri, şarap ve sebzeler, tahıl ürünler, et ve balık ürünlerinde doğal olarak bulunmanın yanında starter kültür şeklinde de kullanılarak gıdaların üretimi, olgunlaştırılması ve raf ömrünün artırılması amacıyla da kullanılmaktadırlar (Tangüler ve Erten, 2006). Gıda üretimi, enzim ve metabolit sentezi, sağlığa olan yararları ve makromoleküllerin sentezinde önemli rol oynadıklarından LAB' ler endüstriyel açıdan da önemlidirler (Pfeiler ve Klaenhammer, 2007).

2.3.1. Laktik Asit Bakterilerinde Fermantasyon

Eskiiden birbirinden farklı tür olarak belirlenen bu türler ortaya koyulan çalışmalar sonucu temel olarak;

1. Homofermentatif laktobasilleri bulunduran *L. delbrueckii*,
2. Obligat homofermentatif mikroorganizmalarla birlikte obligat ve fakültatif heterofermentatif mikroorganizmaların dahil olduğu (*L. casei*, *Pediococcus* spp., *L. acidophilus*, *L. delburueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. kefiraganum*, *L. delburuckeii*, subsp. *lactis*...)
3. Obligat heterofermentatifleri bulunduran laktobasiller (*L. reuteri*, *L. parakefir*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. sanfrancisco*...)

4. *Oenococcus* spp., *Leuconostoc* spp. ve *Weisella* spp. şeklinde sınıflandırılmıştır (Stiles ve Holzapfel, 1997).

2.3.1.1. *Lactobacillus* spp.

Bu gruptaki bakteriler sporsuz, katalaz (-), Gram (+) basil şeklinde mikroorganizmalardır. Bu türdeki mikroorganizmalar en iyi 30 ila 40°C arasında gelişirken 2 ila 53 °C değer aralığında da üreyebilmektedirler (Kıran, 2006). Bu mikroorganizmalar anaerob veya mikroaerofilik olarak ikiye ayrılmaktadır. Ayrıca %5 CO₂ içeren ortamlarda da üreyebilirler (Hammes ve Vogel, 1995).

Homo ve hetero laktobasiller karmaşık besin ortamlarına gereksinim duyarlar. Ayrıca farklı koşullarda gelişebilirler. Karbonhidratların varlığında pH' yı 4 civarına düşürebilirler. Bunun yanı sıra pH 7.2 civarında da gelişebilirler (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Şimdiye kadar 80 tür ve alt türü tanımlanmış laktobasil cinsi vardır. Şeker metabolizmalarına göre laktobasiller 3 grupta incelenmektedir (Canchaya ve ark., 2006).

Grup I. Bu grubta yer alan mikroorganizmalar 45°C ve üzerindeki ısı değerlerinde gelişme gösteren termofilik özelliktedirler. Homofermentatif laktobasiller olarak bilinen bu grup laktoz fermantasyonu ile sadece laktik asit üretebilmektedir. Glukonat ve pentozlar bu süreçte fermantasyona uğrayamamaktadır (Curry ve Crow, 2002).

Grup II. Bu gruptaki laktobasiller 15°C'de üreyebilirken *L. casei* ssp. *casei* hariç diğer türler 45°C' yi aşan sıcaklıklarda gelişme gösterememektedirler. Fakültatif heterofermentatif tür olarak bilinen bu grup heksozları tümüyle laktik asit haline getirir. Fakat yetersiz glukoz konsantrasyonlarında heksoz reaksiyonları sonucunda laktik asit ile birlikte etanol, formik ve asetik asit sentezlemektedirler (Curry ve Crow, 2002).

Grup III. Zorunlu heterofermentatif olan bu grup laktobasil türleri heksoz reaksiyonları sonucu asetik asit, laktik asit ve etanol sentezlemektedirler. Ancak pentoz reaksiyonları sonucunda sadece asetik asit, laktik asit ve etanol sentezlemektedirler (Curry ve Crow, 2002).

2.3.1.2. *Leuconostoc* spp.

Morfolojik görüntüsüne göre sınıflandırılan *Leuconostoc* spp. türü Orla Jansen tarafından “beta cocci” şeklinde tanımlanmıştır. Heterofermentatif kok türde tanımlanmasına rağmen morfolojik görüntüsü yüzünden streptotoklara daha yakındır. Bitkilerden izole edilen *Leuconostoc* spp. baskın bir türdür. Bu türün sayısını Bergey'nin Sistemik Bakteriyoloji El Kitabı (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology) altıdan dörde indirmiştir. Bu türler *L. cremoris*, *L. mesenteroides* ve *L. dextranicum*, *L. mesenteroides* şeklinde sınıflandırılmıştır (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Yuvarlak ve zincir şeklinde mezofilik olan *Leuconostoc* spp.'ler sitokrom içermez ve katalaz (-) mikroorganizmalardır. Sütün asidifikasiyonunda etkili olamayan bu mikroorganizmalar arginini hidrolize edemezler. Heterofermentatif yolla karbonhidratları fermenteden *Leuconostoc* spp.'ler fermantasyon sonucunda etanol, CO₂ ve laktattan eşit miktarda sentezler. Ayrıca bu bakteriler az da olsa asetat da sentezleyebilirler (Fox ve ark., 2000).

Şimdiye kadar 7 tür ve alt türü tespit edilen *Leuconostoc* spp.'lerden sadece *Leu. lactis* ve *Leu. mesenteroides*' ten starter kültür şeklinde süt endüstrisinde yararlanılmaktadır (Dicks ve ark., 1990).

Asetaldehitten diasetil sentezleyen *Leuconostoc* spp.' ler süt ürünlerinde meydana gelen ve asetaldehit birikiminin neden olduğu yeşil aramanın (green flower) iyileştirilmesinde önemli rol oynamaktadırlar (Frank ve Hassan, 1998)

2.3.1.3. *Pediococcus* spp.

Mikroskop görüntüsü tetrat şeklinde olan LAB içinde yer alan mikroorganizmalardır (Stiles ve Holzapfel, 1997). 50°C'ye kadar gelişme gösteren bu türün en uygun gelişme sıcaklıkları 35°C'dir. Katalaz (-) ve heterofermentatif grup içerisinde yer alırlar. Pastörizasyon sonucunda canlılıklarını koruyabilirler. Sebzelerde ve fermenti gıdalarda çokça var olan pediokok türleri alkollü içeceklerde bozulma yaparlar (Salminen ve Wright, 1993; Ünlütürk ve Turantaş, 1999).

Yalancı katalaz sentezi, tuz toleransı ve morfolojik açıdan mikrokoklarla sık sık karıştırılmışlardır. Eskiden *P. cerevisiae* tek tür şeklinde tanımlanmasına rağmen bira ve bitkilerde yer alan pediokok türlerinin yapılan çalışmalar sonucu farklı olduğu tespit edilmiştir (Stiles ve Holzapfel, 1997).

2.3.1.4. *Streptococcus* spp.

Süt ve süt ürünlerinde saprofit mikroorganizma olarak yer alan *Streptococcus* spp., vücut florasında da yer alabilen heterojen grup içerisinde bulunur. Katalaz (-), Gram (+) küre ya da oval şekilli hareketsiz çift ya da zincir şeklinde spor oluşturmayan mikroorganizmalardır. Fakultatif anaerobiktirler. En iyi üreme sıcaklıkları 37°C olmasına rağmen 20 ila 45°C arasında da üreyebilirler (Kazancıgil, 2018; Kırmacı, 2016; Yörük ve Güner, 2011).

120 farklı türü ve 17 alt türü tanımlanan streptokokun en önemli türlerinden biri *S. thermophilus*' tur. Serolojik, biyokimyasal, morfolojik ve fizyolojik açıdan *S. pneumonia* benzeri patojen, *S. lactis* benzeri starter mikroorganizmaları ve *S. faecium* benzeri intestinal mikroorganizmaları içermektedir. *S. sensu stricto*, *Lactococcus* ve *Enterococcus*' u içeren streptokoklar genetik açıdan 3'e ayrılmıştır. Oral streptokok ve patojen türler içeren streptokokun bir başka türü olan *S. thermophilus* süt ürünlerinde starter kültür şeklinde kullanıldığından patojen türlerden ayrılır. Tartışmalı taksonomisi olan *S. thermophilus*' dan starter kültür olarak yararlanılmaktadır (Yörük ve Güner, 2011). Laktoz fermantasyonu sonucu laktik asit

sentezleyen streptokoklar süt ve süt ürünlerinde belirgin aromanın ortaya çıkmasında önemli rol oynamaktadır (Ahi, 2011; Sağlam ve Karahan, 2017; Yakıt, 2019).

Fermantasyon sırasında patojen mikroorganizmaların gelişimini düzenleyen antimikrobiyal madde üreten *S. thermophilus*'un sentezlediği en önemli antimikrobiyal maddelerden biri “thermophilin” bakteriyosinidir (Gezginc ve ark., 2015).

2.3.1.5. *Enterococcus* spp.

Homofermentatif olan enterokoklar laktik asit sentezlerler. Starter kültür şeklinde kullanılması tartışma konusu olan enterokoklar ıslık işleme karşı dirençlidirler. Katalaz (-), Gram (+) sporsuz homofermentatif fakültatif anaerob ikili veya kısa zincir şeklinde görülen kok şeklinde morfolojileri olan LAB türlerindendir. En iyi üreme sıcaklıklarının 37°C olduğu rapor edilmiştir (Arik, 2018; Herkmen, 2015; Yakıt, 2019). Tuza ve aside karşı toleranslı olan enterokoklar 45°C'de ve %6.5 NaCl şartlarında üreyebilirler. Bazı suş ve türleri et, süt ve bitki kökenlidir. Ayrıca *E. faecalis* ve *E. faecium*'un probiyotik özellikte olduğunun anlaşılması bu türleri süt endüstrisi için önemli hale getirmiştir (Aran, 2014).

1889 yılında Thiercelli tarafından kullanılan *Enterococcus* ismi mikroorganizmanın bağırsak kaynaklı olduğunu vurgulamak amacıyla kullanılmıştır. Doğal fermentatif ürünlerdeki bulunurlukları göz önüne alındığında enterokoklar probiyotik mikroorganizmalar arasında sınıflandırılmaktadırlar (Herkmen 2015).

2.3.1.6. *Weissella* spp.

1993'te ilk kez laktobasil grubunda bulunan bazı türler *Weissella* cinsine dahil edilmiştir. Fermente sebze, çiğ süt, et ve et ürünleri, toprak, balık, şeker kamişi, insan ve hayvanların gastrointestinal sistemleri gibi farklı yerlerden izole edilmektedirler. *Weissella* cinsi mikroorganizmalar Katalaz (-), Gram (+) fakültatif anaerob hareketsiz kısa çubuk veya kokoid morfolojiye sahip ikili veya zincir

şeklinde spor oluşturmayan mikroorganizmalardır. Fermantasyon sonucu etanol, asetat ve karbondioksit sentezleyebildikleri bilinen Weissellalar 15 ila 37°C arasında üreyebilmektedirler (Arik, 2018; Yörük ve Güner, 2011).

2.3.2. Laktik Asit Bakterilerinin Metabolizması

Süt endüstrisinde starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri 5 grupta incelenmektedir:

- Aroma bileşenleri üretimi (asetat, etanol, asetaldehit, format vb.)
- Sitrat metabolizması
- Karbonhidrat metabolizması
- Bakteriyosin sentezi
- Polisakkarit sentezi (Aran, 2014).

2.3.3. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Metabolik Ürünler

2.3.3.1. Organik Asitler

LAB' lerin sentezlediği asetik, laktik, propiyonik, formik, valerik, bütirik benzeri organik asitler antimikrobiyal aktiviteyi sağlayan en önemli metabolitlerdir (Corsetti ve ark., 1998). İyonize şekilleriyle organik asitler çevre pH' sini düşürerek; iyonize olmamış şekilleriyle ise sitoplazmik pH' yi düşürerek antimikrobiyal aktivite sağlarlar (Zalán ve ark., 2010).

Sentezlenen organik asitler son ürünün muhafzası ve güvenliğini sağlamada belirleyici etmenlerdir. Özellikle ferment süt ve sebzelerde yaygın olarak yararlanılan metabolitlerdir (Davidson ve ark., 2005; Reis ve ark., 2012). pH' nın düşmesini sağlayarak pek çok mikroorganizmanın gelişimini engellemektedirler (Schnürer ve Magnusson, 2005).

LAB tarafından sentezlenen organik asitlerden biri olan fenillaktik asidin geniş çaplı antifungal ve antibakteriyal etkiye sahip olan antimikrobiyal bir metabolit olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* gibi Gram (-) ve Gram (+) mikroorganizmala raka karşı bakterisidal etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Crowley ve ark., 2013; Dieuleveux ve ark., 1998).

2.3.3.2. Bakteriyosinler

Antibakteriyal peptit olan bakteriyosinler, zayıf mikroorganizmala raka karşı bakteriyostatik ya da bakterisit aktivitesi olan negatif yüklü bileşiklerdir (Akkoç ve ark., 2009; Gálvez ve ark., 2007;). Gram (-) ve Gram (+) mikroorganizmaların sentezlediği bakteriyosinlerin etki spektrumları ve biyokimyasal özellikleri çeşitlilik göstermektedir (Devuyst ve Leroy, 2007; Hwanhlem ve ark., 2014; Todorov ve ark., 2011). Bununla beraber bakteriyosinlerin antimikrobiyal etki mekanizmaları da etki etkileri mikroorganizmaya göre farklılık göstermektedir (Hwanhlem ve ark., 2014).

LAB' lerin sentezlediği bakteriyosinler 4 gruba ayrılmaktadır. Bu ayrim; biyolojik aktiviteleri, ısı duyarlılıklarını, aminoasit dizilimleri, modifiye aminnoasit varlıklarını, etki mekanizmaları, molekül ağırlıkları ve salgı mekanizmalarına göre şekillenmektedir (Cleveland ve ark., 2001; Özlü, 2015).

2.3.3.3. Hidrojen Peroksit

Flavoprotein oksidazları bulunan LAB' ler oksijenli ortamda Hidrojen peroksit (H_2O_2) sentezlerler. H_2O_2 bakterilerin gelişimini disülfit köprüleri oluşturarak engelleyebilmektedir (Rao, 2019). Aynı zamanda fermenter ürünlerin intestinal detoksifikasiyon ve immun süpresyon etkili olduğuda kanıtlanmıştır (Moreno ve ark., 2006; Saikali ve ark., 2004).

Sütün peroksidaz sistemi; çığ sütte, anne sütünde gözyasında ve tükürükte doğal olarak bulunur. Bu sistem laktoperoksidaz enziminin antimikrobiyal etkinliği

sayesinde sütte var olan tiyosiyonatın, hidrojen peroksitin de varlığında hipotiyosiyonik asit ve hipotiyosiyonat sentezlemesi ile gerçekleşmektedir. Ayrıca probiyotik mikroorganizmalarla patojen mikroorganizmaların organik asit, bakteriosin ve çokunluk algısı ile baskılanması sonucunda toksikolojik riskleri azaltılmış hijyenik ve gıda güvenliği açısından güvenilir gıdalar üretilmektedir (Gümüş ve Coşkun, 2008).

2.3.3.4. Yağ Asitleri

Canlıların hepsinde bulunan yağ asitleri karboksil grubunda yer alan doymuş ya da doymamış karbon zincirlerinden meydana gelen amfifilik bileşiklerdir. Doymuş yağ asitlerinden olan laurik asidin antimikrobiyal aktivitesinin çok güçlü olduğu yapılan çalışmalar sonucu rapor edilmiştir. Aynı şekilde doymamış yağ asitlerinden olan linolenik ve linoleik yağ asitlerinin de güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Churchward ve ark., 2018).

LAB fermantasyon boyunca ortamdaki besin maddelerinden esansiyel ve esansiyel olmayan yağ asitleri sentezlemektedir. Antibakteriyal ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olan yağ asitlerinin antimikrobiyal etkisi de zincir uzunluğuna göre farklılık göstermektedir (Huang ve ark., 2011).

2.4. Süt Ürünleri Fermantasyonunda Oluşan Ana Aroma Bileşikleri

Yoğurt benzeri fermenterde bulunan aroma maddeleri uçucu olmayan asitler, uçucu asitler, karbonil bileşikler ve diğer bileşikler olmak üzere dört grupta incelenmektedir (Akın, 2006). Asetik asit, bütirik asit, kaprik asit ve propiyonik asit gibi asitler uçucu asitler grubunda yer almaktadır. Laktik asit, okzalik asit, prüvik asit ve süksinik asitler ise uçucu olamayan asitler grubunda yer almaktadır. Asetaldehit, diasetil, asetoin ve aseton gibi bileşenler karbonil bileşiklerdir. Yağ, protein ve laktozun parçalanması ile oluşan bileşikler de diğer bileşikler grubunda yer almaktadır (Köse ve Ocak, 2014).

2.4.1. Karbonil Bileşikler

2.4.1.1. Asetaldehit

Asetaldehit başta olmak üzere diğer aroma bileşenlerinin sentezinde, starter kültür mikroorganizmalarının spesifik enzim aktiviteleri en etkili faktörlerden birisidir. Karbonil bileşenlerinin sentezi üzerine spesifik enzim aktiviteleri etkilidir. Örneğin; farklı tür sütlerden elde edilen yoğurt benzeri fermentte ürünlerde karbonil bileşenleri arasındaki farklılıktan sütün bileşim özellikleri sorumludur (Erkaya ve Şengün, 2008).

Yoğurt benzeri fermentte ürünlerin tat ve aroma dengesinin sağlanmasıında laktik asit ve karbonil bileşikler birincil öneme sahiptirler (Özer, 2007).

Asetaldehit karakteristik tat ve aramanın şekillenmesinden sorumlu olmanın yanı sıra yoğurt benzeri fermentte ürünlerde kalite faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Yaygın, 1999). Farklı starter kültürlerin asetaldehit sentezleme yeteneği farklı olmakla birlikte, kurumadde arttırımı ve sütün yüksek sıcaklıklarda ısıtılması asetaldehit sentezini artırmaktadır. İnkübasyon süresince artan asetaldehit miktarı raf ömrü süresi boyunca azalmaktadır (Yılmaz, 2006). Laktoz, methionin ve treonin gibi aminoasitler yoğurt benzeri fermentte ürün starterlerinin asetaldehit sentezi için ihtiyaç duydukları en önemli süt bileşenlerindendir (Tamime ve Robinson, 2001). Belirli pH değerlerinde sentezlenen asetaldehit pH 4 değerinde dengededir. pH 5.2' de sentezlenmeye başlayan asetaldehit en yüksek değere pH 4.2' de ulaşmaktadır (Gürsoy-Balcı, 2008; Tamime ve Robinson, 2001).

2.4.1.2. Laktik Asit

Laktik asit LAB' lerin biyokimyasal reaksiyonları sonucu laktozun fermantasyonuyla oluşmaktadır (Tamime ve Robinson, 2001). Tat ve aroma üzerinde spesifik etkiye sahip olan bileşiklerden biri laktik asittir. Yoğurt benzeri fermentte ürünlerde karakteristik tadı veren laktik asit, homofermantatif laktik bakterileri

tarafından sentezlenen temel metaboliktir. Bunun yanı sıra heterofermantatif laktik asit bakterileri de yaklaşık olarak eşit miktarda laktik asit, CO₂, etanoik asit, benzeri yan ürünler sentezlemektedirler (Şenel, 2006).

2.4.1.3. Diasetil ve Asetoin

Karbonil bileşiklerinden diasetil ve asetoin genel olarak çok düşük miktarda bulunurlar ve yoğurt benzeri fermenter ürünlerin aromasına etkileri de sınırlıdır. Sitrat transformasyonu asetoin ve diasetil sentezinde en önemli kaynaktır. Bunun yanında laktozun parçalanması da asetoin ve diasetil sentezinde önemli bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Diasetil ve asetoin biyosentezi sitrat yokluğunda gerçekleşmemektedir. Kokusuz bir bileşik olan asetoin diasetilden meydana gelmektedir. Ancak normal şartlarda diasetil içeriği asetoinden daha düşüktür (Gürsoy-Balcı, 2008; Köse ve Ocak, 2014).

2.4.1.4. Etanol

Etanol laktoz transformasyonuyla laktik asit bakterileri tarafından sentezlenir. Yoğurt benzeri fermenter ürünlerin aromasına oldukça az katkısı olan etanol laktik asit fermantasyonu sırasında oluşturmaktadır. Ancak fazla miktarda etanol sentezi, kullanılan saf kültürün maya ile kontamine olduğunu göstermektedir. Bu durum ise yoğurt ve benzeri ürünlerin aromasının bozulmasına yol açmaktadır (Akın, 2006).

2.4.1.5. Aseton ve Bütanon-2

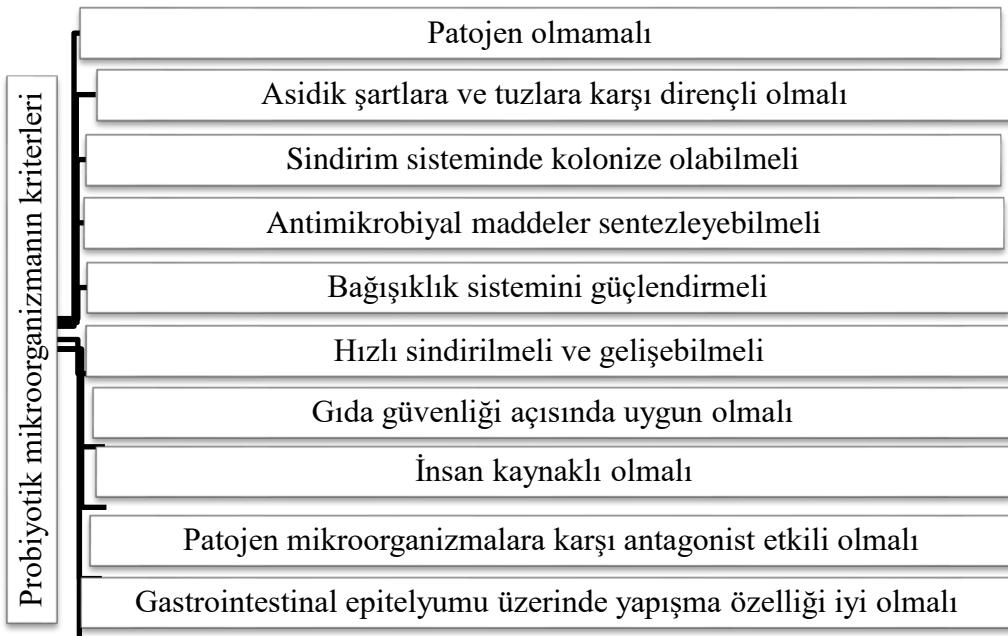
Az miktarda da olsa yoğurt benzeri fermenter ürünlerde aseton ve bütanon-2 ürünün lezzetine katkı sağlamaktadır. Yağın parçalanması ve laktoz transformasyonu sonucu meydana gelen aseton ve bütanon-2 sütte çok az miktarda bulunmaktadır. Asetaldehit ve aseton arasındaki oran karakteristik tat-aromanın belirginleşmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Köse ve Ocak, 2014).

2.5. Probiyotik Mikroorganizmalar

İlk olarak Lily ve Stillwell probiyotik kelimesini “yaşam için” anlamında kullanılan “pros” ve “bios” kelimeleriyle oluşturmuştur (Ceyhan ve Aliç, 2012). Probiyotik; “pros” ve “bios” Yunanca kelimelerin birleşimi ile ortaya olmuş bir terimdir. Bağırsak florasını ve hijyenini olumlu etkileyen, konakçuya fayda sağlayan aktif mikroorganizmalardır. Probiyotikler 1974 yılında Parker tarafından bağırsak mikroflorasının dengelenmesine yardımcı olan organizmalar şeklinde tanımlanmıştır. 1999 yılında ise Fuller probiyotikleri konakçının intestinal sisteminin iyileştirilmesini sağlayan canlı katkı maddeleri şeklinde tarif etmiştir. Bunun yanı sıra gıdalarla birlikte uygun dozlarda alındıklarında sağlığa yararlı canlı mikroorganizmalar şeklinde ifade edilmiştir (Food and Agriculture Organization/ World Health Organization [FAO/WHO], 2002; Fuller, 1999; Schrezenmeir ve Vrese, 2001; Songisepp ve ark., 2012).

Probiyotik mikroorganizma fermento gıda ile doğal yolla alınabildiği gibi, vitamin, aroma bileşenleri ve çeşitli enzimlerle desteklenmiş kapsülle veya tablet şeklinde getirilmiş ve diyet takviyeleri olarak da alınabilmektedir (Can, 2007; Salminen ve ark., 1998).

Mikroorganizmaların probiyotik mikroorganizma olarak sayılabilmesi için patojen olmamaları, asidik şartlara ve tuzlara karşı dirençli olmaları, sindirim sisteminde kolonize olabilmeleri, antimikrobiyal madde sentezleyebilmeleri, bağışıklık sistemini güçlendirmeleri, hızlı sindirilip gelişmeleri, gıda güvenliği açısından uygun olmaları, insan kaynaklı olmaları, patojen mikroorganizmalara karşı antagonist etkili ve gastrointestinal epiteliumu üzerinde yapışma özellikleri olmalıdır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Probiyotik mikroorganizmanın kriterleri

(Arihara, 2006; Bağdatlı ve Kundakçı, 2013).

Probiyotikler insan ve hayvanların mikrobiyal enfeksiyonlara karşı korunmasında güvenli ve ucuz olduklarından beslenmede sıkça kullanılabilirler. Son zamanlarda probiyotik içerikli pek çok süt ürünü endüstriyel üretimde geniş yer kaplamaktadır. Tüketicilerin sağlığı açısından yararlı etkileri olan probiyotiklerin ayrıntılı biçimde incelenen türleri laktik asit bakterileridir (Dunne, 2001; Kim ve ark., 2006).

2.5.1. Probiyotik Mikroorganizmaların Faydaları

Fermente süt ürünlerinin diğer önemli özellikleri probiyotik bakterilerin insan sağırsına taşınmasında rol almalarıdır. Probiyotiklerin çocuklardaki akut ishalin iyileştirilmesi, çocuk süt alerjisinin semptomlarını inhibisyonu, solunum yolları enfeksiyonları riskinin düşürülmesi ve irritabl bağırsak sendromunun azaltılması amacı ile kullanılan birçok preparatı bulunmaktadır. Probiyotikler patojen mikroorganizmaları inhibe edip konakçının mikrobiyotasını iyileştirecek ve kendi metabolik faaliyetlerini de devam ettirerek konakçının bağışıklık sistemini

güçlendirir ve insan sağlığını olumlu şekilde etkiler (Fernández ve ark., 2015). Probiyotik gıdaların sağlık üzerine etkili olan fizyolojik faydaları:

- Bağırsak patojenlerinin inhibisyonu,
- Laktoz intoleransında azalış,
- B vitamini sentezi,
- İmmun sistemin uyarılması,
- Karsinojenlerin detoksifikasyonu,
- Bağırsak akışının regüle edilmesi,
- Rotavirüs ishalinin iyileştirilmesi,
- Kolon kanseri riskinin düşürülmesi,
- Toksik bileşiklerin redüksiyonu,
- İshalin tedavi edilmesi,
- Besin biyoyararlılığında yükseltir (Granato ve ark., 2010).

Probiyotik bakterilerin sağlık açısından faydalı olabilmeleri için bu mikroorganizmaların fermenter gıdalarda stabilitelerini korumaları önemlidir. Probiyotik mikroorganizmaların gıdalarda en az 10^6 kob/ml (koloni oluşturan birim/mililitre) veya kob/g (gram) oranında bulunması bu mikroorganizmaların gastrointestinal sisteme stabilitelerini koruyarak ulaşmaları için gereklidir. Probiyotiklerin gastrointestinal sisteme canlı bir şekilde ulaşabilmeleri için fermenter süt ürünleri uygun gıdalardır. Bağırsak mikrobiyotası için probiyotik bakterilerin fermenter sütler ile kullanılması olumlu etkide bulunmakla beraber bu etkinin sürdürülmesi için de önemlidir (Boza-Méndez ve ark., 2012; Hosono ve ark., 2002; Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001; Santiago-López ve ark., 2015).

2.5.2. Probiyotik Mikroorganizmaların Etki Mekanizmaları

Sindirim sistemi bozukluklarına karşı probiyotiklerin konakçıyı nasıl koruduğuna dair çalışılan pek çok mekanizma vardır. Olası etki mekanizmaları:

- Besin maddeleri için yarış
- Tutunma bölgelerinin engellenmesi

- Toksin reseptörlerinin inhibisyonu
- Bağışıklık sisteminin uyarılması
- Antimikrobiyel madde sentezleriyle patojen mikroorganizmaların yıkımıdır (Rastall ve ark., 2005).

2.5.3. *Lactobacillus reuteri*' nin Taksonomisi ve Tanılanması

LAB' ler içinde birden fazla türü barındıran bir topluluktur. LAB' ler anaerobik ve mikroaerofilik ortamlar ile spor oluşturmayan ve genellikle katalaz (-) Gram (+) olarak bilinirler. Fermente gıdalarda ve insan ve hayvan gastrointestinal sisteminde yer alırlar. Fermantasyon sonucunda laktik asit sentezleyen LAB' ler kemoorganotropiktirler. Bir takım fizyolojik özellikleri ve gastrointestinal bölgede stabilitelerini koruyabildiklerinden dolayı bu mikroorganizmaların probiyotik mikroorganizma olarak kullanılması bakımından birçok araştırmada yer almıştır. Bu durum safra tuzlarına ve/veya asidik koşullara karşı direncine ve üreme sıcaklığı seviyelerine bağlıdır (Tonguç ve ark., 2012). *L. reuteri* hücreleri hafif düzensiz, uçları yuvarlak, tek tek, çifter ve küçük kümeler şeklinde meydana gelen morfolojiye sahiptir. Optimum 45°C'de gelişen *L. reuteri* argininden amonyak sentezler (Casas ve Dobrogosz, 2000).

L. reuteri ilk olarak 1962' de izole edilen, oksijenle sınırlı atmosferlerde gelişen, insan ve hayvanların gastrointestinal yolunu kolonize eden heterofermentatif türler arasında karakterize edilmiştir. Gastrointestinal kanalını kolonize edebilmesi bu mikroorganizmaya büyük probiyotik özellik kazandırmamasının nedeni olabilir. Ayrıca *L. reuteri* geniş pH aralığında stabil kalabilir ve patojen mikroorganizmalara karşı çoklu mekanizmalar kullanır ve antimikrobiyal maddeler sentezleyebilir. Tavuklar, kemirgenler ve domuzlar da dahil olmak üzere birçok omurgalıları kolonize eder. Bu mikroorganizma en tipik olarak konakçının proksimal sindirim sisteminde yer alır (Mu ve ark., 2018).

Birçok çalışma ile *L. reuteri*' nin bebeklerde, çocuklarda, yetişkinlerde ve hatta HIV (Human Immunodeficiency Virus) ile enfekte olmuş popülasyonlarda güvenliği değerlendirilmiştir. Sonuç olarak 2.9×10^9 kob/gün kadar yüksek dozun

insanlarda hâlâ güvenli ve etkili olduğu saptanmıştır (Hoy-Schulz ve ark., 2015; Mangalat ve ark., 2012; Valeur ve ark., 2004; Weizman ve Alsheikh, 2006).

L. reuteri, fiziksel, biyokimyasal ve immünolojik bariyerler, dış antijenlerin ve toksinlerin girişini engellemek için gerekli olan bağırsak bariyer fonksiyonuna sahiptir. Bağırsak bariyerinde herhangi bir anormallik olduğunda bağırsağın geçirgenliği artabilir bu durum da sizdiran bir bağırsakla sonuçlanabilir. *L. reuteri* başta olmak üzere çeşitli probiyotikler mukozal bariyer fonksiyonunu artırma yeteneklerine sahiptir (Mu ve ark., 2017). *L. reuteri*'nin bağırsak geçirgenliğini azaltma özelliği insanlarda da tespit edilmiştir. Ayrıca atopik dermatitli çocuklarda bağırsak bariyer fonksiyonundaki bozulmanın hastalık patogenezi ile pozitif korelasyon gösterdiği ve tedavi sıklığını önemli ölçüde azaltıldığı bildirilmiştir (De Benedetto ve ark., 2011).

Günümüze kadar yanlış sınıflandırılan *L. reuteri* daha önceden *Lactobacillus fermentum* şeklinde bilinmektedir. 1970'lerde bu sınıflandırmaya dair şüpheler oluşmuştur. *L. fermentum* biotip II şeklinde bilinen sus Lerche ve Reuther tarafından genetik ve fenotipik özelliklerine bakılarak diğer *L. fermentum* biotiplerinden farklı olduğu saptanmıştır. *L. fermentum* biotip II'nin *L. reuteri* şeklinde farklı bir tür olarak araştırmacılar tarafından onaylanmıştır. 1980'den itibaren LAB içerisinde farklı bir tür şeklinde kategorize edilmiştir (Casas ve Dobrogosz, 2000).

2.5.3.1. *Lactobacillus reuteri*'nin Fizyolojik Özellikleri

Karbonhidratları fermente etmelerine göre laktobasiller homofermantatif, heterofermantatif ve fakültatif heterofermantatif olarak 3 gruba ayrılır.

1. *L. delbrueckii*, *L. salivarius*, *L. acidophilus* ve *L. helveticus*'un da dahil olduğu homofermatif mikroorganizmalar difosfat aldolaz (FDP) yolunu takip ederek şekerleri yüksek oranda laksit asite çevirirler.

2. *L. reuteri*' yi içinde bulunduran heterofermentatif bakteriler şekerleri laktik aside çevirmekle beraber asidik asit benzeri kısa zincirli yağ asitlerine de dönüştürürler.

3. *L. curvatus*, *L. sakei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* ve *L. casei*' yi içeren fakültatif heterofermentatif mikroorganizmalar hem fosfoketolaz yolunu hem de FDP aldolaz yolunu değiştirerek şekerleri fermenter ederler (Tonguç ve ark., 2012).

Probiyotik mikroorganizma kabul edilmenin bazı şartları vardır. Bu şartlar, düşük pH ve enzimlerle zenginleştirilmiş ortamlarda canlı kalabilmek, konak-probiyotik etkileşimi için epitele tutunabilmek, patojen mikroorganizmalarla rekabet içinde olmak ve sağlık açısından güvenli olmak. *L. reuteri* tüm bu şartları sağladığından ve ek olarak hastalıkların önlenmesi ve/veya iyileştirilmesi gibi özelliklerinden dolayı probiyotik olarak kabul edilmektedir (Mu ve ark., 2018).

İnsan ve hayvanların sindirim sisteminde bulunan *L. reuteri*' nin sentezlediği reuterin düşük molekül ağırlığına, yüksek hidro-çözünürlüğe ve nötr pH' ya sahiptir (Dore ve ark., 2016; Urrutia-Baca ve ark., 2018; Vollenweider ve ark., 2003). Reuterinin hem ökaryot hem prokaryotlara karşı geniş antimikrobiyal aktivitesi mevcuttur. Ayrıca yapılan çalışmalarla reuterinin antiparazitik, antikanserojen ve antifungal etkileri de ortaya koyulmuştur (Axelsson ve ark., 1989; Crowley ve ark., 2013; Talarico ve ark., 1988).

Bir başka tanımlamaya göre, gliserol varlığında anaerobik şartlarda *L. reuteri* geniş spektruma sahip ‘3-hidroksi-propionaldehit’ (reuterin) olarak bilinen antimikrobiyal madde sentezler. İki kademeli bir tepkimenin ara metaboliti olan reuterin sentezlenirken ilk olarak gliserolden reuterin sentezlenir. Ardından reuterinin bir bölümü parçalanarak 1,3-propanediol açığa çıkar (Casas ve Dobrogosz, 2000).

Reuterinin Gram (-) ve Gram (+) mikroorganizmaları ve küfleri, virüsleri, protozoa ve mayaları kapsayan antimikrobiyal etkinliği vardır (Casas ve Dobrogosz, 2000). Reuterinin Gram (+) ve Gram (-) patojen gıda mikroorganizmalarına karşı süt ürünlerinde etkinliğine bakılmış ve reuterinin *Campylobacter jejuni*' ye karşı

antimikrobiyal etkinliği tespit edilmiştir (Arqués ve ark., 2004). Libonükletotid redüktazın substrat bağlayıcı alt ünitesini azaltan reuterin DNA sentezinde de müdahale etmektedir. Reuterinin *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Fusarium* ve *Aspergillus* üzerine antifungal özellikle olduğu birçok çalışma ile ortaya koyulmuştur. Ayrıca *L. brevis*, *L. collinoides*, *L. bucheneri* ve *L. coryniformis* de *L. reuteri*'nin yanı sıra reuterin üreten mikroorganizmalar olduğu saptanmıştır (Magnusson ve ark., 2003; Rattanachaikunsophon ve Phumkhachorn, 2010; Salminen ve Wright, 1998).

2.5.3.2. Gıda Güvenliği ve Tolerans Düzeyleri Yönünden *L. reuteri*'nin Önemi

Lactobacillus reuteri ATCC 55730 (SD2112) suşu, bu bakterinin insan gastrointestinal sisteminin sağlığını geliştirmek ve desteklemek amacıyla bir gıda katkı maddesi olarak kullanılabileceğini düşünülmüştür. Ayrıca gıda güvenliği yönünden *L. reuteri*'nin gastrointestinal sistemde kolonize olmasının hiçbir risk teşkil etmediği bildirilmiştir (Valeur ve ark., 2004). Buna ek olarak periodontitin iyileştirilmesinde de etkili olduğu bildirilmiştir (Tonguç ve ark., 2012). 1995'te ilk defa Finlandiya Tampere Üniversitesi Hastanesi'nde yapılan güvenlik deneyinin amacı *L. reuteri*'nin kolonizasyonu için ihtiyaç duyulan dozu tespit etmek, herhangi bir yan etkisinin olup olmayacağı saptamak ve oral yolla alınacak *L. reuteri* SD2112 şuşunun gastrointestinal sisteminin kolonizasyonu için etkili olup olmadığını tespit etmektedir. Yapılan çalışma sonucunda kolonizasyonun etkili bir şekilde gerçekleştiği ayrıca herhangi bir yan etkinin de tespit edilmediği gözlemlenmiştir. Yapılan bir başka çalışmada 18 ile 75 yaş aralığında 30 kişiye günlük 10^{11} kob/ml *L. reuteri* miktarının bireylerde tolerans ve güvenlik açısından herhangi bir problem oluşturmadığı saptanmıştır (Casas ve Dobrogosz, 2000).

2.5.3.3. Fonksiyonel Gidalarda *Lactobacillus reuteri* Kullanımı

İlk defa 1901'de BRA süütü ve BRA fermenti süütü ismiyle İsviçre' te fonksiyonel gıda marketinde yer alan *L. reuteri* pek çok süt ürünü, meyve suları ve

çeşitli gıda ürünlerinde ABD ve Finlandiya gibi bazı ülke pazarlarında yer edinmiştir. Gıdalarda var olan doğal besleyici ve koruyucu özelliklerine ek olarak *L. reuteri*'nin eklendiği gıdaların insan sağlığına yararlı etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Casas ve Dobrogosz, 2000).

L. reuteri doğal gıdalara ek olarak fonksiyonel gıdalarda da kullanılarak çeşitli ürünler halinde piyasaya sunulmaktadır. Finlandiya'da reuteri kültürü ilavesiyle probiyotik içecekler üretilmekte yine aynı şekilde reuteri kapsülleri, reuteri tozları ve çiğneme tabletleri gibi gıdalara ve içeceklerle karıştırılan ürünler mevcuttur (Tonguç ve ark., 2012).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada materyal olarak yarım yağlı ticari laktosuz süt kullanılmıştır.

3.1. Gereçler

Bu çalışma Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyenİ ve Teknolojisi Anabilim Dalı mikrobiyolijî laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1.1. Kullanılan Malzemeler ve Kimyasal Maddeler

Bu çalışma kapsamında kullanılan besiyerleri Tablo 3.1’ de verilmiştir. Kullanılan besiyerleri üretici firmanın kullanma talimatına göre hazırlanmıştır.

Tablo 3.1. Çalışma kapsamında kullanılan besi yerleri

Besiyeri Adı	Üretici	Katalog
	Firma	No
Maximum Recovery Diluent (MRD)	Merck	1.12535
de man Rogosa ve Sharpe (MRS) Broth	Merck	1.10661
de man Rogosa ve Sharpe (MRS) Agar	Merck	1.10660
M17 Broth	Merck	1.15029
M17 Agar	Merck	1.15108
Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC)Agar	Merck	1.00466

3.1.1.1. Laktoz Çözeltisi

90 ml su içeresine 10 g laktoz (Oxoid L 70) eklerek çözündürülmüştür. Daha sonra steril filtreden geçirilerek hazırlanan M17 ve MRS agar besiyerlerine % 5 oranında eklenmiştir.

3.1.1.2. Gram Boyama Çözeltileri

Gram boyama amacıyla kullanılan reaktif çözeltiler set halinde Advanced Diagnostics and Research (A.D.R) firmasından temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

Çalışmamızda *L. reuteri* DSM 17938 (BioGaia, İsveç) ve *S. thermophilus* (Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesinde daha önce morfolojik ve moleküler olarak tanımlanmış) kullanıldı. Probiyotik bakteri kaynağı olarak *L. reuteri* kullanılan çalışmada süt kaynağı olarak ticari amaçlı kullanılan laktosuz süt kullanıldı.

Sinerjik etki gösterdiği mikroorganizma ve gelişme ortamı belirlenen yeni probiyotik fermenter ürünün analizlerinin yapılması için laboratuvar ortamında *L. reuteri* ve *S. thermophilus* kaynaklı fermenter süt ürünü üretildi. Üretimde 100 ml' lik cam kavanozlar kullanıldı. Kavanozlara 100 ml laktosuz süt eklendi ve mayalama ısısına (42 °C) ayarlandı. 100 ml laktosuz süt içeresine 1 ml' de 10^3 kob/ml *L. reuteri* ve *S. thermophilus* olacak şekilde probiyotik bakteriler inokule edildi.

İnokulasyondan sonra örnekler 42°C' de inkübasyona bırakıldı. İnkubasyon süresince, pH ölçümü ve koagülasyon tespiti için ayrılan örneklerin 2 saat ara ile analizleri yapıldı. Örneklerde inkubasyon sonlandırma pH'sına (4.6/4.8) 12. saatin sonunda ulaşıldı.

Çalışmanın analizleri fermentte süt örnekleri 24 saat + 4°C’ de soğutulduktan sonra ve +4°C muhafazanın 1., 3., 7. ve 15. günlerinde gerçekleştirildi. Fermantasyon çalışması 3 tekrarlı olacak şekilde planlandı.

3.2.1. Kimyasal Analizler

Yeni probiyotikli fermentte ürünün genel bileşimi hakkında bilgi sahibi olmak için gerçekleştirilen toplam titrasyon asitliği, pH ve kuru madde analizlerinde elde edilen değerler Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (TGK, 2009) referans değerleri ile karşılaştırılmıştır.

3.2.1.1. Sütün Kimyasal Analizi

Sütün bileşimindeki kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi amacı ile Lactoscan MCCV cihazı kullanıldı. Süt analizatörü ile sütün ph, protein, yağ ve yağsız kuru madde değerleri analiz edildi.

3.2.1.2. Probiyotik Ürünün Su Aktivitesi (a_w)

Probiyotik ürünün su aktivitesi (a_w) değerleri Novasina Labtouch-Aw (Novasina AG, Lachen, Switzerland) su aktivitesi ölçüm cihazı ile saptandı.

3.2.1.3. Probiyotik Üründe Protein Tayini

Üretilen probiyotikli fermentte ürünün protein içeriği Kjeldahl metodu kullanılarak hesaplandı (TS EN ISO 8968-1, 2014). Bu amaçla örnektten üç gr tartılıp yakma tüpünün içine konuldu ve üzerine iki adet yedi gr olan kjeldahl katalizör tabletlerinden (Gerhardt Kjelcat S) ve 25 ml % 95-98 ‘lik H₂SO₄ (Sülfirik asit) eklendi. Daha sonra pastör pipeti ile Parafin likitten iki damla damlatıldı. Tüpler sıcaklığın kademeli olarak yükseltildiği yaşı yakma ünitesine yerleştirildi. Yaşı yakma

ünitesinden çıktıktan sonra tüpler soğumaya bırakıldı ve üzerlerine 50 ml distile su eklendi. Gerhardt distilasyon cihazıyla distilasyon işlemi gerçekleştirildi. Distilasyon işlemi için 75 ml %40'lık NaOH (Sodyum hidoksit) (Merck) ve 60 ml %4'lük BaO₃ (Borik asit) ilave edilerek amonyum borat destilatı oluşturuldu. Oluşan destilatlar 500 ml'lik beherlere aktarılırak titrasyon işlemeye geçildi. Titrasyonda kullanmak üzere indikatör çözelti olarak hazırlanan üç ml metilen kırmızısı yedi ml metilen mavisinden oluşan çözeltilerden beherlere dört damla eklendi. Ardından yeşilimsi renge dönüşen destilat erlene aktarılırak manyetik karıştırıcı ile açık mor renk oluşana kadar 0.1 N HCl (Hidroklorik asit) (Merck) ile titrasyona devam edildi. Daha sonra aşağıdaki formül kullanılarak % azot değeri hesaplandı.

$$\% \text{ Azot} = \frac{(V_1 - V_0 \times N \times 0.014)}{m} \times 100$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Azot} \times F$$

F= Azot içeriğine göre kullanılan faktör (Süt ve süt ürünleri için 6.38)

V₁: harcanan HCl çözeltisinin ml olarak miktarı

V₀: Kör titrasyonunda harcanan HCl çözeltisinin ml olarak miktarı

N: Kullanılan HCl çözeltisinin normalitesi (0.1 N)

0.014: Azotun mili ekivalent ağırlığı

m: Alınan örnek miktarı (gr)

3.2.1.4. Probiyotik Ürünün pH Ölçümü

pH metre HANNA HI2211 pH 4 ve 7'lik buffer solusyonları ile kalibre edildikten sonra pH metre elektrodu örneğin içine daldırılarak sabit değere ulaştıktan sonra pH değeri kaydedildi (TS 591/T3, 2019).

3.2.1.5. Probiyotik Ürünün Toplam Asitliği (Laktik Asit Cinsinden)

Probiyotik ürünün asitliği titrimetrik yöntem ile hesaplandı. Laktik asit düzeyi formülle hesaplandı. % laktik asit (LA) cinsinden verildi (TS 591/T3. 2019). Bu amaçla 10 gr örnek tartılarak üzerine 10 gr distile su eklendi ve homojen hale

getirildi. Homojenattan 20 ml alınarak üzerine pastör pipeti ile 3-4 damla fenolftalein indikatörü damlatıldı ve ardından N/10' luk NaOH (Sodyum hidroksit) ile hafif pembe renk oluşuncaya kadar titrasyon işlemeye devam edildi. Titrasyon asitliği aşağıdaki formülle LA değeri olarak hesaplandı (Sarantinopoulos ve ark., 2001).

$$(\%) \text{LA} = \frac{V \times N \times 0.009 \times F \times 100}{m}$$

V: Harcanan NaOH miktarı (ml)

m: Örnek miktarı (g)

F: 0.1 N NaOH çözeltisinin faktörü

N: NaOH Normalitesi

3.2.1.6. Probiyotik Ürünün Yağ Oranı

Yağ oranı TS ISO 3433, 2015 standardına göre Van Gulik metodu ile yüzde değeri hesaplandı. Probiyotik ürün öncelikle 1:1 oranında Stomacherde homojen hale getirildi ve ardından % 8' lik bütirometre kadehçigine 10 ml % 90' lik süfirk asit (d: 1.82 g/ml) eklendi daha sonra 1:1 oranında homojen edilmiş örnekten 11 ml ilave edildi. Ardından üzerine 1 ml amil alkol eklenerek çalkalandı. Bütirometrenin ağızı kapatılarak Gerber santrifüjünde 5 dk santrifünlendi. İşlem sonucunda bütirometre skalasından yağ miktarı % olarak hesaplandı.

3.2.1.7. Gram Boyama

L. reuteri MRS agar besiyerinde 30°C' de 18-24 saat aktifleştirildi ve daha sonra koloniler iğne uçlu steril öze yardımıyla alınarak lam üzerine bir damla saf su ile yayıldı ve alevden geçirilerek fiks edildi. Ardından preparat üzerine 2 dakika boyunca kristal viyole ile boyandı ardından kristal viyole çözeltisi giderilinceye kadar bol miktarda su ile yıkandı. Lam, ADR^R Lugol çözeltisi ile çalakalanarak su kalıntıları tamamen giderildi. Daha sonra örneğin üzerine lügol çözeltisi eklendi ve 2 dk bekletildi ardından akar musluk suyu ile bolca yıkandı. ADR^R Farklılandırma

çözeltisi (renk giderme) ile renk giderme işlemi yapıldı. Musluk suyu içerisinde yıkandı ve örneğin üzerine ADR^R Sulu fuksin dökülkerek 60 s kadar bekletildi. Preparat kuruduktan sonra ışık mikroskopunda (Novex, Holland immersiyon yağı (Merck 104699) damlatılarak 100x' lik büyütmede incelendi. Yapılan inceleme sonucunda izolatların Gram boyama özellikleri ve morfolojileri belirlenmiştir. Menekşe renkli hücreler Gram pozitif olarak tanımlanmıştır (Bartholomew ve Mittwer, 1952).

3.2.2. Mikrobiyolojik Analiz

Yeni probiyotikli fermenter ürünün üretimi için yarım yağlı UHT süt 42°C sıcaklığı ulaşana kadar su banyosunda bekletildi. 42°C' ye ulaşan sütten 100 ml kavanozlara bölündü. Ardından süte 10³ oranında *L. reuteri* ve *S. thermophilus* eklerek 42°C' de 12 saat inkübasyona bırakıldı.

3.2.2.1. Örneğin Analize Hazırlanması

Aseptik şartlarda stomacher poşetine 10 g örnek ve 90 ml MRD (Merck) eklendi. İki dakika boyunca Stomacherde (IUL 400) homojen hale getirilerek 1:10' luk dilüsyonu elde edildi. 1:10' luk dilüsyondan önceden hazırlanmış 9 ml' lik steril MRD içeren tüplere 1 ml eklendi ve ardından Vorteksle (Velp ZX3) homojen hale getirilip örneğin seri dilüsyonları oluşturuldu.

3.2.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı

Probiyotikli fermenter ürün örneğinden *L. reuteri* sayımı için seri dilusyonlardan MRS agar besiyerine 1' er ml dökme plak yöntemi ile ekim yapıldı ve 37°C' de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra gelişen tüm koloniler sayıldı (Şimşek ve Sağdıç 2006; Tassou ve ark., 2002).

S. thermophilus sayımı için hazırlanan seri dilusyonlardan M17 agar besiyerine 1 ml alınarak dökme plak yöntemi ile ekim yapıldı ve 37°C’ de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra gelişen koloniler sayıldı (TS ISO 21527-2, 2014).

3.2.2.3. Maya-Küf Sayımı

Hazırlanan dilusyonlardan DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar) agar besiyerine yayma plak yöntemi ile 0.1 ml ekim yapılarak 25°C’ de 5 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra gelişen koloniler sayıldı (Halkman, 2005; TS ISO 21527-2, 2014).

3.2.3. Organik Asit Tayini İçin Numune Hazırlama

Süpelco C18 katı faz kartuşu önce 3 mL metanol ile şartlanıp ardından 10 mL saf su ile yıkandı. 5 g tartılan örnek, 5 mL %2’ lik H₃PO₄ ile homojenize edildi. Karışım 2 dakika santrifüjlendi. Üst faz alındı ve üst fazın 1mL’ si, 1 mL ekstraksiyon çözeltisi ile seyreltildi. Ekstraksiyon çözeltisi olarak pH’ sı 8.00’e ayarlanmış olan 0.01 M KH₂PO₄ çözeltisi kullanıldı. Bu çözeltinin 1 mL’si kartuştan geçirildi ve eluat bir tüpe alındı. Kartuş, 1 mL ekstraksiyon çözeltisi ile yıkandı. Eluatlar birleştirildi ve enjeksiyon hacmi 20 µL olacak şekilde HPLC’ye uygulandı (Alhendawi ve ark., 1997; Krapez ve ark., 2001).

3.2.3.1. Organik Asit Tayini

Organik asit tayini için kullanılan cihazın özellikleri aşağıda verilmiştir:

Dedektör: SPD-10Avp UV-VIS dedektörü (210 nm), Sistem denetleyicisi: LC- 20AT çıkıştı, Otomatik örnekleyici: SIL-20AC çıkıştı, Pompa: LC- 20AT çıkıştı, Degazör: DGU- 20A5 çıkıştı, Kolon firını: CTO-10AS vp, Kolon: Teknokroma TRACER EXTRASİL ODS (2) (250 x 4.6 mm) 5µ TR-016059, Kolon

sıcaklığı: 30°C, Mobil faz: %1 ACN / %99 0.05 M KH₂PO₄ (pH:2.5), Enjeksiyon hacmi: 20 µL, Akış Hızı: 0.8 mL / dakika

3.2.4. SPME Aroma Profili

Yeni ferment probiyotikli ürün -20°C’ de donduruldu. Daha sonra 3.0 g örnek 15 mL hacimli viale alınarak 40°C’ de 30 dakika bekletildi. Uçucu maddelerin ekstraksiyonunda çözücsüz teknik kullanıldı. Ekstraksiyon işlemi, 75 m carboxen-polydimethylsiloxane fiber-vial enjeksiyonu ile gerçekleştirildi. Fiber 40°C’ de 30 dakika tepe boşluğununda (headspace) tutularak aroma maddelerinin fiber yapısına geçmesi sağlandı. Ekstrakte edilecek uçucu bileşiklerin desorbsiyonu GCMS sisteminde yapıldı. Desorbsiyon sırasında fiber enjeksiyon bloğuna daldırılarak 250°C’ de 2 dakika bekletildi. Taşıyıcı gaz olarak 1 mL/dakika akış hızında helyum kullanıldı. Bileşiklerin ayrimında DB-Wax (60 m, 0.25 mm, 0.25 um) kolonu kullanıldı. Fırın sıcaklığı başlangıçta 40°C’ de 2 dakika tutuldu (desorpsiyon periyodu) ve dakikada 5°C olmak üzere sıcaklık 70°C’ ye yükseltilerek bu sıcaklıkta 1 dakika bekletildi. Daha sonra sıcaklık dakikada 10°C artışla 240°C’ ye çıkarıldı ve burada 30 dakika tutuldu. Kütle spektrometresi 33–450 amu arası set edilmiş (eşik değeri 1000) ve örnekleme hızı dakikada 1.11 tarama olarak ayarlanıdı. Üründeki uçucu aroma bileşiklerinin belirlenmesinde Shimadzu GC-2010 gaz kromatografisi sistemi ve buna bağlı Shimadzu QP-2010 kütle spektrometresi sistemi kullanıldı. Ayrimı gerçekleştirilen aroma bileşiklerinin tanımlanmasında Wiley, National Institute of Standards and Technology (NIST) kütüphaneleri ve her bir pikin alikonma zamanları ile hidrokarbon standardının alikonma zamanları kullanılarak hesaplanan “Retention Index” (RI) değerleri referans alındı. Sonuçlar her bir pikin toplam pik alanına % oranı şeklinde verildi.

4. BULGULAR

Çalışmada kullanılan laktozsuz sütün kimyasal kompozisyonu Tablo 4.1' de verildi. Laktozsuz süt örneğine ait yüzde ortalama yağısız kurumadde (%), protein, yağ ve pH değeri sırasıyla % 10.71, 2.8, 1.5 ve 6.6 olarak tespit edildi.

Tablo 4.1. Sütün kimyasal analiz sonuçları

Yağısız Kuru Madde	Protein	Yağ	pH	
Süt	10.71±1.3	2.8± 0.2	1.5± 0.1	6.6±0.02

Laktozsuz süt ortamında *L. reuteri* ve *S. thermophilus* kullanılarak üretilen yeni probiyotikli fermentte ürününe ait fermantasyon boyunca değişim gösteren pH ve laktik asit cinsinden % LA değerleri Tablo 4.2' de gösterildi. Tablo 4.2 incelediğinde inkübasyonun 4. saatlerinde pH ortalama 6.47' dir. Fermantasyonun 12. saatinde pH değeri kazeinlerin izoelektirik noktası (4.6) değerine düştü ve inkübasyon sonlandırıldı. İnkübasyonun ardından örnekler 24 saat + 4° C soğutuldu. pH ve LA değerleri sırası ile 4.36; 1.4 olarak tespit edildi.

Tablo 4.2. Yeni probiyotikli fermentte ürün örneklerinin asitlik tayini

	4.saat	6.5. saat	10.saat	12.saat	24.saat
pH	6.47	5.96	5.45	4.67	4.36
LA(%)	-	-	-	-	1.4

Yeni probiyotikli fermente ürüne ait su aktivitesi ve kuru madde değerleri Tablo 4.3' de verildi. Örneklerin su aktivitesi 0.982-0.987 arasında değişim gösterdiği tespit edildi. Örneklerde ait kuru madde değerleri ise % 9.93-11.47 arasında olmakla beraber ortalaması % 10.58 olarak belirlendi.

Tablo 4.3. Yeni probiyotikli fermentte ürün örneklerinin 24. saatteki analizleri

Ort. \pm S.S.	
aw	0.985 \pm 0.00265
Kuru Madde	10.58 \pm 0.56

Yeni probiyotikli fermente ürünün + 4° C de soğuk muhafazada 1., 3., 7. ve 15. günlerde pH, su aktivitesi, kuru madde, yağ oranı ve protein oranlarında meydana gelen değişimler Tablo 4.4' de gösterildi. 1. gün 4.36 olan ph değeri 3. günde 4.02, 7. günde, 3.57, 15. günde ise 2.91 olarak kaydedilip muhafaza süresince azalmanın devam ettiği tespit edildi. Soğuk muhafaza günlerinde yapılan analizlerde su aktivitesi değeri ortalama olarak 0.987 olarak kaydedildi. Kuru madde, yağ ve protein oranları da ortalama olarak sırasıyla % 10.66, 1.8 ve 4.03 olarak belirlendi.

Tablo 4.4. Yeni probiyotikli fermentte ürün örneklerinin muhafazası süresince fizikokimyasal analizleri

	1. Gün	3. Gün	7. Gün	15. Gün
pH	4.36	4.02	3.57	2.91
aw	0.987	0.987	0.986	0.989
K.M	10.66	10.78	11.58	11.25
Yağ	1.8	1.8	1.6	1.4
Protein	4.03	4.02	4.02	4.01

pH: Asitlik **aw:** Su Aktivitesi **K.M:** (%)Kuru Madde

Yeni probiyotikli fermente ürün örneklerine ait mikrobiyal analiz sonuçları Tablo 4.5 verildi. 12 saat süren fermantasyonun ardından 24 saat + 4°C de soğuk muhafaza süresi sonrasında örneklerin *Lactobacillus* spp. (*L. reuteri*) sayısı sayısı 10⁹ kob/g, *Streptococcus* spp. sayısı (*S. thermophilus*) sayısı 10⁹ kob/g olarak, tespit edildi. Örneklerin hiçbirinde toplam küf/ maya kolonisi tespit edilmedi.

Tablo 4.5. Yeni probiyotikli fermentte ürün örneklerinin mikrobiyolojik sonuçları (kob/g).

	1. Tekrar	2. Tekrar	3. Tekrar
<i>Lactobacillus spp.</i>	10^9	10^9	10^9
<i>Streptococcus spp.</i>	10^9	10^7	10^9
Maya-küf	<100	<100	<100

Yeni probiyotikli fermente ürünün organik asit değerleri Tablo 4.6' da verilmiştir. Tablo 4.6 incelendiğinde organik asitlerden en yoğun düzeyde tespit edilenler laktik asit ve asetik asittir. Bu iki organik asidin ortalama değerleri sırasıyla 14.64 mg/g ve 2.8 mg/g olarak tespit edilmiştir. Örneklerde pürivik ve süksinik asit belirlenemezken en düşük düzeyde fumarik asit saptanmıştır.

Tablo 4.6. Yeni probiyotikli fermentte ürün örneklerinin 24. saatteki organik asit analiz sonuçları

(mg/g)

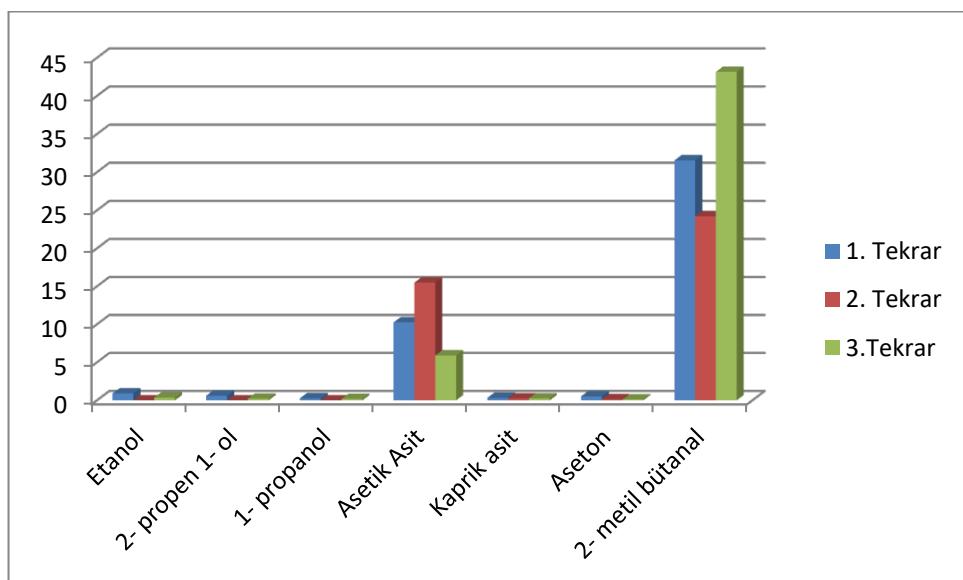
Organik Asit	1. tekrar	2. tekrar	3.tekrar	Ort. \pm S.S.
Laktik Asit	13.23	14.74	15.95	14.64 ± 0.9636
Asetik Asit	2.64	2.94	2.82	2.80 ± 0.11
Sitrik Asit	0.62	0.66	0.63	0.64 ± 0.0223
Okzalik Asit	0.14	0.23	0.24	0.20 ± 0.04
Askorbik Asit	0.06	0.08	0.07	0.07 ± 0.007
Fumarik Asit	0.01	0.01	0.01	0.01 ± 0
Pürivik Asit	-	-	-	-
Süksinik Asit	-	-	-	-

Yeni probiyotikli fermente ürün örneklerinin uçucu aroma bileşikleri Tablo 4.7' de verilmiştir. SPME aroma profilinde başlıca ve en karakteristik olanlar asetik asit, kaprilik asit, kaprik asit, etanol ve aseton benzeri bileşiklerdi. Genel olarak uçucu aroma profilinin %0.26'sı keton %43.16'sı aldehit %0.41' i alkol %7.51' i uçucu organik asit olarak belirlendi. Fermente süt ürünlerin baskın uçucu aromatik bileşikleri aseton ve asetaldehitin ön maddesi 2- metilbütanal sırasıyla 0.26, 32.97 oranında belirlendi. Alkol grubunda ise etanol % 1.08 olarak tespit edildi.

Tablo 4.7. Yeni probiyotikli fermentte ürün örneklerinin 24. saatteki SPME profili (%)

	% Ortalama
Alkol	1.08
Etanol	0.44± 0.08
2-propen-1-ol	0.41±0.07
1-propanol	0.23±0.04
Yağ asitleri	12.29
Asetik asit	10.56±3.3
Kaprik asit	0.28±0.03
Kaprılık asit	1.45±0.07
Keton	0.26
Aseton	0.26±0.15
Aldehit	32.97
2-metilbütanal	32.97±6.7
Diger	53.71

Yeni probiyotikli ürünün paralel tekrarlarında SPME profilini oluşturan uçucu aroma bileşikleri oranları şekil 4.1' de gösterilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. SPME profilini oluşturan uçucu aroma bileşikleri

5. TARTIŞMA

Dünyada farklı adlarla bilinen fakat birbirine benzer özelliklere sahip üretiminde kısmi ya da tam olarak fermantasyonu barından 400' ün üzerinde süt ürünü bulunmaktadır. Bu ürünlerden bazıları yoğurt, peynir, tereyağı ve krema gibi dünyada yaygın olarak tüketilen süt ürünleridir. Fermente süt ürünlerinin çekici tatları ve sağlık açısından sahip olduğu olumlu etkileri sayesinde popüleritesi her geçen gün artmaktadır (Panesar, 2011; Yücel Şengün, 2011; Karaçıl ve Acar, 2013). Ülkemizde de bu çeşitlilikden dolayı Türk Gıda Kodeksi, Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde yapılan tanıma göre "Fermente süt ürünü: Sütün uygun mikroorganizmalar tarafından fermantasyonu ile pH değerinin koagülasyona yol açacak veya açmayacak şekilde düşürülmesi sonucu oluşan ve içermesi gereken mikroorganizmaları yeterli sayıda canlı ve aktif olarak raf ömrü sonuna kadar bulunduran süt ürünü" olarak tanımlanmıştır. Yine aynı tebliğin hammadde ürün özelliklerinde tebliğde yer alan: "starter kültürlerle ilave olarak diğer starter kültürler ve/veya yan kültürler de kullanılabilir" ifadesi yer almaktadır (Türk gıda kodeksi fermente süt ürünleri tebliği; tebliğ no: 2022/44). Bu tanımdan yola çıkarak çalışmamızda, Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Mikrobiyoloji laboratuvarında üretilen, probiyotik mikroorganizma içeren yeni probiyotik fermente ürüne ait örneklerin temel fizikokimyasal özellikleri, mikrobiyolojik analizleri, organik asit düzeyleri ve SPME aroma profilleri çıkartılmıştır.

5.1. Fizikokimyasal Analiz

Fermente ürünlerinin tat orama ve yapısının oluşumunda fermente süt ürününün ham madesi olan sütün kimyasal kompozisyonu çok önemlidir. Kimyasal kompozisyonu sütün kuru maddeyi oluşturan, yağ, protein, laktوز vitamin ve minareller oluşturmaktadır. Bu bileşiklerin oranı ve kalitesi, süt içerisinde bulunan fermantasyon ile görevli mikroorganizmaların metabolizma hızını ve metabolik

ürünlerin çeşitliliğini etkilemektedir. Çalışmamızda da sütün fizikokimyasal yapısında ve kalitesinde değişikliği en aza indirmek amacıyla UHT olarak sterilize edilmiş laktosuz süt kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan sütün kuru madde miktarı 10.54 ve pH'sı 6.72 olarak tespit edilmiştir.

Yapılan literatür taramalarında süt ortamında *L. reuteri* kullanılarak üretilen fermenter ürünler ile ilgili çalışmalara rastlanmamıştır. Bunun nedeni *L. reuteri*'nin süt ortamında gelişme problemlerinden kaynaklanabilir. Bu durum karbonhidrat seçiciliği ve özellikle de tercihen maltoz, sükroz ve rafinoz kullanmasından kaynaklanabilir (Zhao ve Gänzle, 2018). Bu nedenle çalışmamızdaki fizikokimyasal analizlerin sonuçları daha çok fiziksel yapısı ve ile benzer fermenter süt ürünü yoğurta karşılaştırılmıştır. Benzerlik olarak; fiziksel yapısı, fermantasyonunda rol alan mikroorganizmalardan birisinin *S. thermophilus* olması, inkubasyon sıcaklığı ve süresi olarak sayılabilir. Bunun yanında çalışmada inkubasyon sonlandırma pH'sı yoğurda eş değer olarak alındığından çalışma daha çok yoğurta ilgili araştırmalar ile karşılaştırılarak tartışılmaktır. Fizikokimyasal parametrelerden biri olan kuru madde, ürünün randımanının ve kıvamının oluşumunda oldukça önemlidir. Mevcut yürürlükte olan Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde kuru madde oranı hakkında bir düzenleme mevcut değildir. Çalışmamızda yeni probiyotikli fermenter ürün örneğinin kuru madde oranı %10.66 ile %11.58 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Yağ, sütün kuru madde miktaranı oluşturan önemli bileşenlerden biridir. TS 1330'a göre tam yağlı yoğurdun en az %3.8, yağlı yoğurdun en az %3.0, yarı yağlı yoğurdun en az %1.5, az yağlı yoğurdun en fazla %1.5, yağısız yoğurdun ise en çok %0.15 olarak verilmiştir. Yeni probiyotikli fermenter ürünün yağ (%) değeri yarı yağlı yoğurt kategorisinde yer almaktadır.

Fermantasyonda rol alan mikroorganizmaların oluşturduğu uçucu aroma bileşikleri genelde sütün içerisinde yer alan protein ve karbonhidrat metabolizması sonucunda oluşmaktadır (Köse ve Ocak, 2014). Süt ürünlerinde kalitenin düşmesine neden olan etkenlerden biri protein oranının düşük veya yüksek olması可以说. Sütteki protein oranının değişimi daha çok genetik olarak belirlenmesine rağmen yetersiz beslenme, laktasyon dönemi, süt verim düzeyi ve ırk gibi etkenlerin protein oranına etki etkileri saptanmıştır (Şekerden ve Özkütük 1990; Yalçın, 1981). Aynı

zamanda protein oranı ve kalitesi, mikroorganizmaların proteinleri metabolize etmesi yeteneğini etkilemeye ve buna bağlı olarak aroma bileşiklerinin çeşitliliğini belirlemektedir. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliğinde (Tebliğ No: 2009/25) yoğurttaki protein oranının ağırlıkça en az %3 olması gerektiği bildirilmiştir. Çalışmamızda elde edilen ürünün de protein oranı %3'ün üzerinde olup Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliğine uygundur.

Asitlik değeri, yoğurt gibi fermenter ürünlerin tat ve aroması ile ilgili önemli kalite ölçütlerindendir. Ayrıca yoğurdun raf ömrü süresince duyusal özelliklerini yitirmeden, tüketilebilmesi için de önemli bir faktördür. Bunun yanında raf ömrü süresince ürünlerde patojen mikroorganizmaların üremesini de engellemektedir. Dengeli tat gelişimi için yoğurt asitliğinin belli sınır aralıklarında olması gerekmektedir (Sezgin, 1981; Tamime ve ark., 1980). Aynı zamanda laktik asit sentezi sonucunda belirli bir değere ulaşan pH, kazeinin pihtlaşmasını sağlayarak jel yapıyı oluşturmaktadır. Raf ömrü ve ürünün olgunlaşması süresince de pH düşüşü ve asitlik artışı devam etmektedir. Starter kültür mikroorganizmaları pH'ın düşüş hızını ve seyrini belirlemektedir. İnkübasyonda kullanılan mikroorganizmanın türü, cinsi ve suş özellikleri ve oranı, pH'ın hızlı ya da yavaş bir şekilde düşmesinden büyük oranda sorumludur (Ersan ve Topçuoğlu, 2019). pH değeri ile % asitlik değeri arasında genellikle ters orantı vardır. Bundan dolayı asitliği artıran faktörler pH değerinin azalmasına neden olmaktadır. Bu faktörler içerisinde fermantasyonda inkübasyon sıcaklığının yüksek olması, süte fazla mayanın katılması, inkübasyon süresinin uzun olması, laktik asit bakterisi oranlarının arzu edilen düzeyde olmaması ve inkübasyonun ardından muhafaza sıcaklığının yüksek olması gibi faktörler etkilidir (Dayisoylu, 1992). Çalışmamızda da yeni fermenter süt ürünü örneklerine ait ortalama pH 4.36 ve LA değerleri %0.88 olup TS-1330 Yoğurt Standardına (%0.80-%1.60) uygun aralıkta olduğu tespit edilmiştir.

Su aktivitesi (aw), gıdadaki suyun buhar basıncının, aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına oranı olarak tanımlanmıştır (Rocklan ve Nishi, 1970; Stoloff, 1978). Bir başka deyişle su aktivitesi gıdanın bünyesinde yer alan serbest su miktarının ölçüsüdür. Gıdada var olan bağlı suyun kimyasal olarak ne kadar sıkı bağlandığının göstergesidir. Gıdalardaki suyun mikrobiyolojik gelişmede kullanılabilme durumu su aktivitesi ile yakından ilişkilidir. Birçok araştırmacı

fermente süt ürünlerinden biri olan yoğurda ait su aktivitesi değerinin 0.93 ile 0.98 arasında değiştğini rapor etmişlerdir (Schmidt ve Fontana, 2020). Çalışmamızda da örneklerde ait su aktivitesi değeri 0.98 olarak tespit edilmiştir.

5.2. Mikrobiyolojik Analiz

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliğine (Tebliğ No: 2009/25) göre yoğurt, *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*' un gerçekleştirdiği laktik asit fermantasyonu sonucunda oluşan fermente süt ürünü olarak bilinmektedir. Aynı tebliğde, farklı starter kültürlerin de fermente süt jelini oluşturduğu ve tat ile aromayı geliştirdikleri bildirilmiştir. Laktik asit bakterileri fermantasyon süresince üründe bir dizi biyokimyasal metabolit üretmekte ve neticesinde ekşi, hafif alkollü, kıvamlı, kokulu ve köpüklü yapıda yeni fermente süt ürünleri elde edilmektedir (Tomar ve ark., 2017). Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF)'nun yaptığı tanıma göre; fermente süt ürünleri “tam yağlı, yarım yağlı, az yağlı, yağsız, konsantre, süt tozuyla kuru maddesi artırılmış süt, homojenize ya da homojenize edilmemiş, pastörize ya da sterilizasyon işleminden sonra soğutulup özel laktik asit bakterilerini içeren starter kültürleri ile tek başlarına ya da karışımıları kullanılarak fermente edilmiş, içerisinde tüketimden önce canlı laktik asit bakterileri içeren bir ürün” şeklinde tanımlanmaktadır. Fermente süt ürününün yüksek ve standart kalitede üretilmesi, güvenilir starter kültür sistemlerinin kullanılması ile ilişkilendirilmektedir. Süt ve süt ürünlerinde laktik asit bakterilerinden aroma oluşturma özelliklerinden dolayı starter kültür olarak yararlanılmaktadır. Lezzetinin algılanmasında ürünün aroması önemli bir rol oynamaktadır. Üretim aşamasında, olgunlaşma aşamasında ve kompleks biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda gidanın karakteristik aroması oluşmaktadır (Karabiyaklı ve Erdoğmuş, 2019).

Ürune istenen aroma, tat, yapı, koku gibi özellikleri kazandırmanın yanı sıra starter kültürler, standart kalitede ürün üretmek amacıyla kullanılan ve belli özelliklere sahip mikroorganizma kültürleri olarak bilinmektedirler. Süt ürünlerinde kullanılan starter kültürlerin en önemli fonksiyonları; laktوزun fermantasyonuyla laktik asit sentezi, proteolitik ve lipolitik aktivite, ürünleri patojen ve bozucu mikroorganizmalardan koruyan asidik koşulların sağlanması, diasetil ve asetaldehit

benzeri aroma sağlayan uçucu bileşiklerin sentezi gibi sıralanabilir (Yaygın ve Kılıç 1993).

Yoğurt benzeri fermenter ürünlerin prosesinde probiyotik mikroorganizmalar tek başına kullanılabılır. Ancak bu durum fermantasyon süresinin uzamasına ya da probiyotik mikroorganizmanın süt ortamında gelişmemesi gibi sorunlara neden olmaktadır. Aynı zamanda yoğurt starterleri olan *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*' un sinerjik etkileri ile probiyotiklerin daha hızlı gelişmesine ve bağırsak sisteminde probiyotik mikroorganizmaların beklenen aktivitesinin artış göstermesine yardımcı olmaktadır (Barat, 2015). Bu nedenden dolayı çalışmamızda süt ortamında tek başına gelişemeyen *L. reuteri*' nin yanına *S. thermophilus* eklenerek bu mikroorganizmaların sinerjik etkisinden yararlanılıp yeni bir probiyotikli fermenter süt ürünü elde edilmiştir. Bu ürüne ait laktik asit bakteri sayıları 12 saatlik inkübasyonun ardından *L. reuteri* 10^9 kob/ml ve *S. thermophilus* 10^9 kob/ml düzeyinde ortalama olarak tespit edilmiştir. Bu spesifik laktik asit bakteri sayıları, TGK Etiketleme Yönetmeliği'nde belirtilen "Bir ürünün probiyotik ürün olarak nitelendirilebilmesi için en az 10^6 kob/g canlı probiyotik bakteri içermelidir" (TGK, 2009) ibaresine uyduğunu göstermektedir. Bunun yanında yeni probiyotikli fermenter ürün, Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde bildirilen yoğurttaki toplam spesifik bakteri sayısına da (g'da en az 1.0×10^7 kob/g) ulaşmıştır (TGK, 2009).

Yoğurdun mikrobiyolojik kalitesi ve güvenliğinin sağlanması açısından maya-küf sayısı önemli bir ölçütür. Maya-küfler gelişebilmek için düşük pH' li ortamlara gereksinim duyarlar, yoğurt da düşük pH' ya sahip olduğundan maya ve küf gelişimi için ideal koşulları sağlamaktadır. Üretim esnasında hijyen şartlarına gerekli özen gösterilmediğinde yoğurtta yüksek sayıda maya-küf gelişmektedir. Ayrıca üretimin ardından sıcaklık değerlerinin uygun olmaması da maya-küf gelişimi için bir diğer etkendir (Azgin, 1993). TS 1330 Yoğurt Standardı' na göre maya ve küf değerleri için öngörülen üst sınır 1.0×10^2 kob/g' dir. Çalışmamızda ise muhafaza süresince maya-küf gelişimi tespit edilmemiştir.

5.3. Organik Asit Çeşitliliği ve SPME Profili

5.3.1. Organik Asit Çeşitliliği

Starter kültür içeren fermenter gıdaların tümünde bulunan laktik asit, gıdalarda ferahlatıcı ve hafif ekşimsi tat gibi esas özellikleri sağlamaktadır. Kazeinin sindirilebilirliğini düzenlemesi, peptitler, aminoasitler, mineraller ve laktoz benzeri bazı bileşenlerin emilimini artırmaktadır (Akin 2006).

Kullanılan sütün bileşimi, sütün kalitesi, kullanılan kültür ve sus, yoğurt benzeri fermenter süt ürününe işlenme aşamasında uygulanan teknolojik işlemler, depolama süresi ve sıcaklığı ve süt çeşidi gibi faktörler laktik asit sentezi üzerinde etkilidir. Yapılan çalışmalarla laktik asit içeriği değişiklik göstermektedir (Yılmaz, 2006).

Uçucu asitlerin serbest bırakılması hem *L. bulgaricus* hem de *S. thermophilus*' un metabolik aktiviteleri sonucunda gerçekleşmektedir. Ancak *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*' a göre daha çok uçucu asit sentezlemektedir. Bu durum *L. bulgaricus*' un proteolitik aktivitesinin yüksek olmasına bağlımaktadır. Uçucu yağ asitlerinin miktarı yoğurdun üretim aşamasında, önemli oranda artmaktadır (Yalçın ve Yurdakök, 2000).

Laktik asit bakterilerinin sentezlediği organik asitler, karbonhidrat metabolizmasının son ürünleridir. Asit sentezleyerek ortamın pH'sını düşürüp asitliğin gelişmesini sağlayan mikroorganizmalar starter kültür olarak kullanılmaktadır (Ercoşkun ve Ertaş 2003; Widystuti ve Febrisiantosa, 2014). Artan bu asitlik çevreden ya da hammaddeden kaynaklı bulaşmayı engelleyerek gıdanın muhafaza süresini uzatmakta ve gıdanın güvenilirliğini sağlamaktadır. Fermantasyon sırasında laktik asit bakterilerinin metabolik ürünleri olarak bazı organik asitler sentezlenmektedir. Laktik asit bu organik asitlerden en önemlididir. Diğer organik asitler ise asetik asit, propiyonik asit, okzalik asit, askorbik asit, sitrik asit, fumarik asit, süksinik asit, pirüvik asit ve benzoik asittir (Demircü ve Sağıdıç, 2017; Kıarma, 2016). Heterofermentatif bakterilerin sentezlediği asetik asit gıdanın aromasına katkı

sağlamaktadır. Heterofermentatif laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen propiyonik asit ise gıdalarda fungslara karşı kullanılmaktadır (Kırma, 2016). Çalışmamızda organik asit içeriği incelenen yeni probiyotikli fermenter ürünün laktik asit miktarı ortalama 14.64 mg/g olarak saptanmıştır.

Fumarik asit ekşi meyvemi bir tada sahip organik asittir. Çalışmamızda yapılan organik asit analizleri sonucunda fumarik asit 0.01 mg/g olarak tespit edilmiştir. Genel olarak tatsız bir tada sahip olan oksalik asidin ise bazı formları ekşimsi hoş bir tada sahip olabilmektedir. Bu çalışmada ise oksalik asit 0.20 mg/g olarak tespit edilmiştir. Gıdalarda bulunan en önemli uçucu organik asitlerden biri olan asetik asit hoş olmayan keskin bir tada sahip olsa da kokulara karşı bir denge sağlayabilir organik asit sonuçlarımızda asetik asit değeri 2.80 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Süt fermantasyonu sırasında, laktoz, lipidler, sitrik asit ve proteinlerin enzimatik veya kimyasal dönüşümleri de gerçekleşebilmesine rağmen, uçucu bileşikler esas olarak mikrobiyal dönüşümlerden oluşabilir. Pek çok durumda, fermenter süt ürünlerinden aroma ve uçucu profiller arasındaki farklar, doğrudan farklı bakteri suşlarının varlığına bağlanmıştır (Pan ve ark., 2014).

5.3.2. Aroma Profilleri

Fermente (süt) ürünlerin kalitesi büyük oranda duyusal algı ile belirlenmektedir. Duyusal algı; doku, aroma bileşenlerinin içeriği ve görünüm gibi birçok etkenden etkilenen kompleks bir olgudur (Brand ve Bryand, 1994).

Süt ve yoğurt benzeri fermente ürünlerde proteinler, laktik asit bakterilerinin proteolitik aktivitesi, sindirim enzimleri ve/veya ısıl işlemlerle üretilen biyoaktif peptitlerin ve aroma bileşiklerinin (örneğin, treonin asetaldehyte dönüştürülebilir) başlıcaları oldukları için yogurt benzeri fermenter ürünlerin güvenliği ve aroması üzerinde etkili olabilirler (Aloğlu ve Öner, 2011).

Yoğurt, *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*' un gerçekleştirdiği laktik asit fermantasyonu sonucunda oluşan ferment süt ürünü olarak bilinmektedir. Yoğurdu oluşturan laktik asit bakterileri aynı zamanda yoğurtta tat ve aromanın gelişimine de katkı sağlamaktadırlar. Tat ve kıvamla birlikte aroma, yoğurdun duyusal profiline önemli bir katkı sağlar ayrıca yoğurdun genel kabul edilebilirliği için de önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir. Fermente ürünlerde oluşan aroma bileşikleri substrat, enzimatik ve starter kültür kaynaklı olabilse de starter kültürlerin aromaya büyük katkı sağladığı bilinmektedir. Laktik asit bakterileri, genetik özelliklerine bağlı olarak, yoğurda özgü tam aroma oluşumuna katkıda bulunan bireysel karakteristik aroma bileşiklerini sentezleyen mikroorganizmalar olarak kabul edilmektedir. Karbonil bileşikleri, daha spesifik olarak asetoin, asetaldehit ve aseton gibi uçucu aroma bileşikleri yoğurt aromasına esas katkıyı sağlayan yapılar olarak bilinmektedir (Akın, 2006; Smid ve Kleerebezem, 2014).

Yoğurdun oluşumu sırasında diğer aroma bileşenlerine oranla en fazla sentezlenen ve yoğurda kendine özgü karakteristik tat ve aromasının oluşumuna önemli katkıda bulunan asetaldehit, yoğurtta kalite faktörü olarak bilinmektedir (Yaygın, 1999). Asetaldehit sentezi gücünün starter kültür çeşidine göre değişiklik göstermesinin yanı sıra, kuru madde arttırımı ve sütün yüksek sıcaklıklarda ısıtılması asetaldehit sentezini artırmaktadır (Köse ve Ocak, 2014). Muhafaza süresince azalan asetaldehit miktarı inkübasyon süresinde ise artmaktadır (Yılmaz, 2006). Asetaldehit sentezi için yoğurt bakterilerinin ihtiyaç duyduğu en önemli süt bileşenlerinden biri laktozdur. Bunun yanında methionin ve treonin aminoasitleri de asetaldehit sentezi için ihtiyaç duyulan süt bileşenlerindendir (Tamime ve Robinson, 2001). Çalışmamızda örneklerin tamamında ferment süt ürünlerinin önemli bir aroma bileşeni olan asetaldehit tespit edilmemiştir. Bu durum asetaldehit üretimindeki başlıca metabolizmanın laktоз metabolisması olmasından kaynaklanmaktadır. *L. reuteri*' nin gelişimini sağlayabilemesi amacı ile süt kaynağı olarak kullanılan laktosuz süt asetaldehit üretimini etkilemiştir. Ancak örneklerin tamamında asetaldehit ön maddesi 2-metilbütanal miktarı (%32.97) en yüksek oranda tespit edilen uçucu aroma bileşiği olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda örneklerde asetaldehit yerine 2-metilbütanal' in daha yüksek seviyede belirlenmesi, ferment süt ürünlerinde asetaldehit üretiminden daha çok *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* sorumlu olmasından kaynaklanabilir.

Starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmalar, asetaldehit ve aseton gibi potansiyel karbonil bileşikleri sentezleyebilir. Asetoin ve asetaldehit tipik yoğurt aromasını sağlayan bileşiklerdir. Bu nedenle günümüzde üreticiler, geleneksel yoğurtlara göre daha az aromatik olduğu bilinen endüstriyel yoğurtlara lezzet katmak için aroma üretme kapasitesi yüksek starter kültürler talep etmektedir (Hajimohammadi Farimani ve ark., 2016; Gezginc ve ark., 2015). Fermente süt ürünleri ile ilgili yapılan aroma profili analizlerinde asetaldehit değerleri belirtilmektedir. Ancak bizim çalışmamızda asetaldehitin ön maddesi olan 2-Metilbütanal miktarı (%32.97) belirlenmiştir. Bunun nedenleri; fermente ürünlerde asetaldehit üretimi *S. thermophilus*' a göre daha aktif olan *Lactobacillus delbrueckii ssp.bulgaricus*' un kullanılmaması, *L. reuteri*' nin süt ortamında gelişebilmesi için laktosuz süt kullanımı ve probiyotik mikroorganizmaların uzun süren inkubasyonları sayılabilir.

Yoğurt mikroorganizmalarının fermantasyonu sonucu sentezlenen ketonlar (aseton ve asetoin) yoğurdun karakteristik koku ve lezzetinin oluşumunda aldehitlerden sonra en çok rol oynayan bileşiklerdir. Asetaldehit ile aseton arasındaki oranın yoğurt benzeri fermente süt ürünlerinde keskin aroma ve tat oluşumuna önemli derecede katkısı vardır. Bu oranın 2.8:1.0 düzeyinde olması gerekiği tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra asetaldehitin asetona oranının 0.4:1.0 olduğu durumlarda keskin iyi bir aroma ve tadın oluşmadığı bildirilmiştir (Beshkova ve ark., 1998; Rasic ve ark., 1978). Çalışmamızda aseton ortalama % 0.26 olarak tespit edilmiştir ancak kullanılan kültür farklılığı ve ortam farklılığından dolayı çalışmamızda asetaldehit değeri tespit edilememiştir. Asetaldehit miktarı saptanamadığından dolayı asetaldehit ve aseton oranı belirlenememiştir.

Asetoin, indirgenmiş bir diasetil formudur ve diasetilden çok daha zayıf bir tada sahiptir. Bununla birlikte, asetoin, diasetilin sertliğini azaltmada önemlidir ve hafif kremsi bir tat üretmeye yardımcı olur. Ayrıca diasetil ve asetoin biyosentezi sitrat yokluğunda gerçekleşmemektedir. Kokusuz bir bileşik olan asetoin diasetilden meydana gelmektedir. (Cheng, 2010). Tian ve ark., (2019) üretikleri ve kontrol grubu olarak kullandıkları yoğurdun asetoin içeriğini 20.95 mg/L olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızda asetoin miktarı diğer çalışmalardaki değerlerden daha

düşük % 1.07 olarak tespit edilmiştir. Bu durum kullanılan ortamın farklılığından kaynaklanabilir (Tian ve ark., 2019).

Yoğurt, sırasıyla %22.7 ve %3.08 oranında asetik asit ve etanol gibi tatlandırıcı uçucu organik bileşikler içermektedir (Pan ve ark., 2014). Etanol, yoğurdun esas uçucu bileşiği asetaldehitin de kaynağıdır (Chaves 2002).

Asetik asit, hetero fermentatif LAB tarafından sentezlenen önemli asit bileşiklerinden biridir. Yoğurttaki en uygun asetik asit konsantrasyonu 0.5 ile 18.8 mg/L arasındadır (Alonso ve Fraga, 2001). Konsantrasyon çok yüksekse, genel aromayı dengesiz hale getiren bir sirke aroması üretilicektir (Tamine ve Robinson, 1999). Çalışmamızda asetik asit değerinin %10.56 olduğu tespit edilmiştir.

Spesifik olarak, etanol, 3-pentanol ve 1-heksanol yoğurttaki ana alkol bileşikleridir. Etanol, sütte glikoz metabolizmasının veya amino asit bozunmasının son ürünüdür (Urbach, 1995). Tian ve ark., (2019) ürettikleri ve kontrol grubu olarak kullandıkları yoğurta etanol değerini %0.9 olarak tespit etmişler. Bunun yanında düşük konsantrasyonlarda etanolün tatlı aromayı artttığını da bildirmiştir. Çalışmamızda etanol değeri % 0.44 olarak tespit edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Laktik asit bakterilerinin çoğunluğunu oluşturduğu probiyotiklerin insan sağlığı ve gastrointestinal mikroflora arasındaki ilişkileri son yıllarda üzerinde çokça durulan bir konudur. Günümüzde gastrointestinal floranın dengesini bozan birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler arasında en yoğun olarak stres, ilaç kullanımı özellikle antibiyotik, gıda katkı maddeleri ve gastrointestinal sistem hastalıkları sayılabilir. Bozulan florayı probiyotik mikroorganizmalar ile tekrardan oluşturanın iki yolu bulunmaktadır. Birincisi insan beslenmesinde probiyotik içeren fermenter gıdaların oranını artırmak ya da ikinci olarak probiyotikleri çeşitli farmasötik tablet şeklinde gıda takviyesi formunda almak gerekmektedir. Bu anlamda tezimizin konusu insan diyetlerinde kullanılabilecek probiyotik içeren yeni bir fermenter gıda üretmektir. Bu amaçla *L. reuteri* ve *S. thermophilus* kullanarak yeni probiyotikli fermenter süt ürünü elde edilmiştir.

Ürünün pH'sı 4.47, su aktivitesi 0.985, kuru madde miktarı 10.58, protein oranı 4.03, yağ 1.8 olarak tespit edilmiştir. Probiyotik fermenter süt ürünlerinin sağlık üzerine olumlu etki gösterebilmeleri için belli sayıda mikroorganizma içermesi gerekmektedir. 24. saat mikrobiyolojik analiz sonuçlarında laktobasil sayısı 10^9 kob/ml, streptokok sayısı 10^9 kob/ml maya-küf sayısı ise <100 kob/ml olarak saptanmıştır. Bu değerler üretilen probiyotikli fermenter ürünün probiyotik kabul edilme şartlarını sağladığını göstermektedir. Çalışmamız kapsamında ürettiğimiz yeni probiyotikli fermenter ürünün asitlik gelişimi incelemişinde ürünün 15 günlük muhafaza süresince saklanabileceği tespit edilmiştir.

Probiyotiklerin yararlı etkileri, seçilen suş, tüketim düzeyi, maruz kalma süresi ve sıklığı ve bireyin fizyolojik durumu gibi bir dizi faktöre bağlı olacaktır. Bağılıkılık fonksiyonunu iyileştirmeye karşı laktوز intoleransını hafifletmek gibi istenen sağlık etkisini dikkate almak önemli olacaktır.

Zamanla enerji barları, tahıllar, meyve suları, bebek maması ve peynir gibi probiyotik içeren yeni gıda ürünlerinin yanı sıra hastalığa özgü tıbbi gıdalar ortaya

çıkacaktır. Üretilen probiyotik gıda ürünlereri için kimlik standartlarının oluşturulması, bu probiyotik gıda ürünlerinin geliştirilmesine ve bulunabilirliğinin hızlandırılmasına hizmet edecektir (Kopp-Hoolihan, 2001). Ürettiğimiz yeni probiyotikli fermente ürünü ileride kimlik standartı oluşturalacağına inanmaktayız.

KAYNAKLAR

- Ahi, S. (2011). *Bazı laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit üretimi ile antibiyotik dirençliliklerinin araştırılması*. [Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Gazi Üniversitesi].
- Akın, N. (2006). Modern yoğurt bilimi ve teknolojisi. *Damla Ofset, Konya*, 456s.
- Akkoç, N., Şanlıbaba, P. ve Akçelik, M. (2009). Bakteriyosinler: Alternatif gıda koruyucuları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 25(1), 59-70.
- Alhendawi, R. A., Römhild, V., Kirkby, E. A. and Marschner, H. (1997). Influence of increasing bicarbonate concentrations on plant growth, organic acid accumulation in roots and iron uptake by barley, sorghum, and maize. *Journal of Plant Nutrition*, 20(12), 1731-1753. <https://doi.org/10.1080/01904169709365371>
- Aloğlu, H. Ş. and Öner, Z. (2011). Determination of antioxidant activity of bioactive peptide fractions obtained from yogurt. *Journal of dairy science*, 94(11), 5305-5314.
- Alonso, L. and Fraga, M. J. (2001). Simple and rapid analysis for quantitation of the most important volatile flavor compounds in yogurt by headspace gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatographic science*, 39(7), 297-300.
- Anal, A. K. and Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science and Technology*, 18(5), 240-251. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.004>
- Aran, N. (2014). *Gıda Biyoteknolojisi* (4. Baskı). Nobel Yayınevi.
- Arat Maden, E. ve Altun, C. (2012). Probiyotikler ve ağız sağlığı. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 22(3), 334-339.
- Argin, S. (2007). *Microencapsulation of probiotic bacteria in xanthan-chitosan polyelectrolyte complex gels*. University of Maryland, College Park.,
- Arık, G. (2018). *Çeşitli gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması ve biyofilm oluşturma yetenekleri ile antibiyotik dirençliliklerinin araştırılması* [Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi].
- Arihara, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*, 74(1), 219-229. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.028>
- Arqués, J. L., Fernández, J., Gaya, P., Nuñez, M., Rodríguez, E. and Medina, M. (2004). Antimicrobial activity of reuterin in combination with nisin against food-borne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 95(2), 225-229. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.009>
- Aslan, F. G. ve Altındış, M. (2017). İnsan mikrobiyom projesi, mikrobiyotanın geleceği ve kişiye özel tip uygulamaları. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 1, 1-6.
- Axelsson, L. T., Chung, T. C., Dobrogosz, W. J. and Lindgren, S. E. (1989). Production of a broad spectrum antimicrobial substance by *Lactobacillus reuteri*. *Microbial ecology in health and disease*, 2(2), 131-136. <https://doi.org/10.3109/08910608909140210>
- Ayhan, K., Durlu-Özkaya, F. ve Tunail, N. (2005). Commercially important characteristics of Turkish origin domestic strains of *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *International Journal of Dairy Technology*, 58(3), 150-157.

- Azgin, A. (1993). Sivas piyasasında tüketime sunulan yoğurt örneklerinin bazı kalite özellikleri üzerine bir araştırma. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat*.
- Bağdatlı, A. B. and Kundakçı, A. (2013). ferment et ürünlerinde probiyotik mikroorganizmaların kullanımı-Using probiotic microorganisms in fermented meat products. *Celal Bayar University Journal of Science*, 9(1), 31-38.
- Barat, A. (2015). *Meyveli probiyotik fermentte süt içeceği üretimi* [Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi].
- Bartholomew, J. W. and Mittwer, T. (1952). The gram stain. *Bacteriological Reviews*, 16(1), 1-29.
- Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G. and Simov, Z. (1998). Production of flavour compounds by yogurt starter cultures. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 20(3), 180-186. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900504>
- Biyikli, A. (2020). *Lactococcus lactis' te 4, 6 alfa-glukanotransferaz enziminin hücre dışı rekombinant üretilimi* [Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi]. <http://hdl.handle.net/11499/35296>
- Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D., and Webb, C. (2003). Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International*, 36(6), 527–543.
- Boza-Méndez, E., López-Calvo, R. and Cortés-Muñoz, M. (2012). Innovative dairy products development using probiotics: challenges and limitations. In. *Tech, Costarica*, 10, 213-236. <http://dx.doi.org/10.5772/50104>
- Brand, J. G. and Bryant, B. P. (1994). Receptor mechanisms for flavour stimuli. *Food Quality and Preference*, 5(1-2), 31-40. [https://doi.org/10.1016/0950-3293\(94\)90006-X](https://doi.org/10.1016/0950-3293(94)90006-X)
- Buttriss, J. (1997). Nutritional properties of fermented milk products. *International Journal of Dairy Technology*, 50(1), 21-27.
- Can, Ö. P. (2007). Probiyotik Mikroorganizmaların Immun Sistem Üzerine Etkisi. *Fırat Üniversitesi Doğu Araştırmaları Dergisi*, 6(1), 194-196.
- Canchaya, C., Claesson, M. J., Fitzgerald, G. F., Van Sinderen, D. and O'Toole, P. W. (2006). Diversity of the genus *Lactobacillus* revealed by comparative genomics of five species. *Microbiology*, 152(11), 3185-3196. <https://doi.org/10.1099/mic.0.29140-0>
- Caplice, E. and Fitzgerald, G. F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1-2), 131-149. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00082-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00082-3)
- Casas, I. A. and Dobrogosz, W. J. (2000). Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broad-spectrum protection against disease in humans and animals. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 12(4), 247-285. <https://doi.org/10.1080/08910600050216246-1>
- Ceyhan, N. ve Aliç, H. (2012). Bağırsak mikroflorası ve probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (1), 107-113.
- Champagne, C. P. and Fustier, P. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(2), 184-190. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.03.001>
- Chaves, A.C.S.D., Fernandez, M., Lerayer, A.L.S., Mierau, I., Kleerebezem, M., Hugenholtz, J., (2002). Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(11), 5656-62.
- Chen, H. and Hoover, D.G. (2003). Bacteriocins and their food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(3), 81- 100.

Cheng, H. (2010). Volatile flavor compounds in yogurt: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 50(10), 938-950.

Churchward, C. P., Alany, R. G. and Snyder, L. A. (2018). Alternative antimicrobials: the properties of fatty acids and monoglycerides. *Critical Reviews in Microbiology*, 44(5), 561-570. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2018.1467875>

Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F. and Chikindas, M. L. (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71(1), 1-20. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00560-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00560-8)

Corsetti, A., Gobbetti, M., Rossi, J. and Damiani, P. (1998). Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50(2), 253-256. <https://doi.org/10.1007/s002530051285>

Cosansu, S., Kuleasan, H., Ayhan, K., and Materon, L. (2007). Antimicrobial activity and protein profiles of *Pediococcus* spp. isolated from Turkish "Sucuk". *Journal of Food Processing and Preservation*, 31(2), 190-200.

Crowley, S., Mahony, J. and van Sinderen, D. (2013). Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science and Technology*, 33(2), 93-109. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.07.004>

Currò, D., Ianiro, G., Pecere, S., Bibbò, S. and Cammarota, G. (2017). Probiotics, fibre and herbal medicinal products for functional and inflammatory bowel disorders. *British Journal of Pharmacology*, 174(11), 1426-1449. <https://doi.org/10.1111/bph.13632>

Curry, B. and Crow V. (2002). *Lactobacillus* spp. General characteristics. In: Encyclopedia of Dairy Science, Ed. H. Roginski. Elsevier Science, 1479-1484.

Davidson, P. M., Sofos, J. N. and Branen, A. L. (2005). *Antimicrobials in food*. CRC press. <https://doi.org/10.1201/9781420028737>

Dayisoylu, K. S. (1992). *Van piyasasında üreten ve satışa sunulan yoğurtların fizikal kimyasal mikrobiyolojik ve duyusal özellikleri üzerine bir araştırma* [Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi].

De Benedetto, A., Rafaels, N. M., McGirt, L. Y., Ivanov, A. I., Georas, S. N., Cheadle, C. and Beck, L. A. (2011). Tight junction defects in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(3), 773-786. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.10.018>

De Vuyst, L., and Leroy, F. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Microbial Physiology*, 13(4), 194-199.

Demircü, F. ve Sağdıç, O. (2017). Laktik starter kültür üretim teknolojisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(11), 27-37.

Dhama, K., K Latheef, S., K Munjal, A., Khandia, R., A Samad, H., MN Iqbal, H. and K Joshi, S. (2016). Probiotics in curing allergic and inflammatory conditions-research progress and futuristic vision. *Recent patents on inflammation and allergy drug discovery*, 10(2), 105-118.

Dicks, L. M. T., Van Vuuren, H. J. J. and Dellaglio, F. (1990). Taxonomy of Leuconostoc species, particularly Leuconostoc oenos, as revealed by numerical analysis of total soluble cell protein patterns, DNA base compositions, and DNA-DNA hybridizations. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 40(1), 83-91. <https://doi.org/10.1099/00207713-40-1-83>

Dieuleveux, V., Lemarinier, S. and Gueguen, M. (1998). Antimicrobial spectrum and target site of D-3-phenyllactic acid. *International journal of food microbiology*, 40(3), 177-183. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00031-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00031-2)

Distrutti, E., Monaldi, L., Ricci, P. and Fiorucci, S. (2016). Gut microbiota role in irritable bowel syndrome: New therapeutic strategies. *World journal of gastroenterology*, 22(7), 2219. doi: 10.3748/wjg.v22.i7.2219

Dore, M. P., Soro, S., Rocchi, C., Loria, M. F., Bibbò, S. and Pes, G. M. (2016). Inclusion of *Lactobacillus reuteri* in the treatment of *Helicobacter pylori* in Sardinian patients: a case report series. *Medicine*, 95(15). doi: 10.1097/MD.0000000000003411

Dunne, C. (2001). Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder. *Inflammatory bowel diseases*, 7(2), 136-145. <https://doi.org/10.1097/00054725-200105000-00010>

Ehlers P.I., Kivimäki, A.S., Turpeinen, A.M., Korpela, R. and Vapaatalo, H. (2011). High blood pressurelowering and vasoprotective effects of milk products in experimental hypertension. *British Journal of Nutrition*, 106(9), 1353-63.

Endo, A. and Okada, S. (2005). Monitoring the lactic acid bacterial diversity during shochu fermentation by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99(3), 216-221. <https://doi.org/10.1263/jbb.99.216>

Erçoşkun, H. ve Ertaş, A. H. (2003). Fermente et ürünlerinin lezzet bileşenleri ve oluşumları. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 7(16), 38-45.

Erkaya, T. ve Şengül, M. (2008). Yoğurtta aroma bileşenleri. *Hasad Gıda*, 24(278), 32-37.

Ersan, L. Y. ve Topçuoğlu, E. (2019). Badem sütü ile zenginleştirilmiş probiyotik yoğurtların mikrobiyolojik ve bazı fiziko-kimyasal özellikleri. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33(2), 321-339.

FAO/WHO, (2002). Guidelines for the evaluationof probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report. Accessed July 20, 2011. <http://www.who.int/foodsafety/fs-management/en/probioticguidelines.pdf>.

Fernández, C. E., Giacaman, R. A., Tenuta, L. M. and Cury, J. A. (2015). Effect of the Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* LB21 on the Cariogenicity of *Streptococcus mutans* UA159 in a Dual-Species Biofilm Model. *Caries Research*, 49(6), 583-590.

Fernández, M., Hudson, J.A., Korpela, R. ve Reyes-Gavilán, C.G. (2015). Impact on Human Health of Microorganisms Present in Fermented Dairy Products: An Overview. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, Article ID: 412714, 13 pages.

Fox, P. F. (1993). Cheese: an overview. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*, pp. 1-36.

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. and Mc Sweeney, P. L. H. (2000). Starer cultures. In: Fundamentals of Cheese Science. *Apsen Publishers*: Maryland, USA. 54-97.

Frank, J. F. and Hassan, A. N. (1998). Starter cultures and their use. *Applied dairy microbiology*, 1, 131-172.

Fuller, R. (1999). Probiotics. In *Colonic Microbiota, Nutrition and Health* (pp. 89-99). Springer, Dordrecht. DOI: 10.1007/978-94-017-1079-4_6

Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L. and Omar, N. B. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International journal of food microbiology*, 120(1-2), 51-70. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.001>

Gerez, C. L., Carbajo, M. S., Rollán, G., Torres Leal, G. and Font de Valdez, G. (2010). Inhibition of citrus fungal pathogens by using lactic acid bacteria. *Journal of Food Science*, 75(6), M354-M359. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01671.x>

Gerez, C. L., Torino, M. I., Rollán, G. and de Valdez, G. F. (2009). Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control*, 20(2), 144-148. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.03.005>

Gezginc, Y., Topcal, F., Comertpay, S. and Akyol, I. (2015). Quantitative analysis of the lactic acid and acetaldehyde produced by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* strains isolated from traditional Turkish yogurts using HPLC. *Journal of dairy science*, 98(3), 1426-1434. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8447>

Gıda Tarım Bakanlığı (2009). Türk gıda kodeksi fermenti süt ürünleri tebliği. *Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara, Türkiye*, 25, 2009.

Gillor, O., Nigro, L. M. and Riley, M. A. (2005). Genetically engineered bacteriocins and their potential as the next generation of antimicrobials. *Current Pharmaceutical Design*, 11(8), 1067-1075. <https://doi.org/10.2174/1381612053381666>

Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A., and Di Cagno, R. (2005). Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 57-69.

Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15(7-8), 330-347. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.10.005>

Granato, D., Branco, G.F., Cruz, A.G., Faria, J.D..AF. ve Shah, N.P. (2010). Fonksiyonel gıdalar olarak probiyotik süt ürünler. *Gıda bilimi ve gıda güvenliğinde kapsamlı incelemeler*, 9(5), 455-470.

Gümüş, T. ve Coşkun, F. (2008). Gıda güvenliğinde fermantasyonun önemi. *Türkiye*, 10, 1069-1072.

Gürsoy-Balçır, A. C. (2008). *Farklı tür kullanılarak koyun, keçi sütleri ve bunların karışımından üretilen yoğurtların depolama sırasında uçucu bileşenler ve serbest yağ asitlerinde meydana gelen değişimler* [Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi].

Hajimohammadi Farimani, R., Habibi Najafi, M. B., Fazly Bazzaz, B. S., Edalatian, M. R., Bahrami, A. R., Flórez, A. B. and Mayo, B. (2016). Identification, typing and functional characterization of dominant lactic acid bacteria strains from Iranian traditional yoghurt. *European Food Research and Technology*, 242(4), 517-526.

Halkman, A. K. (2005). Gıda mikrobiyolojisi uygulamaları. Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri. Ankara.

Hammes, W. P. and Vogel, R. F. (1995). The genus *lactobacillus*. In: *The genera of lactic acid bacteria* (pp. 19-54). Springer, Boston, MA. DOI: 10.1007/978-1-4615-5817-0_3

Herkmen, T. B. (2015). *Mastitisli sığır sütlerinden izole edilen enterococcus faecium suşlarında gele, ESP ve efaafm genlerinin varlığının incelenmesi* [Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi].

Holzapfel, W. (1997). Use of starter cultures in fermentation on a household scale. *Food Control*, 8(5-6), 241-258. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(97\)00017-0](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(97)00017-0)

Holzapfel, W. (2002). Enterococci in foods. Functional and safety aspects-Foreword. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2-3), 103-103.

Hosono, A., Otani, H., Yasui, H. and Watanuki, M. (2002). Impact of fermented milk on human health: cholesterol-lowering and immunomodulatory properties of fermented milk. *Animal Science Journal*, 73(4), 241-256. <https://doi.org/10.1046/j.1344-3941.2002.00034.x>

Hoy-Schulz, Y. E., Jannat, K., Roberts, T., Zaidi, S. H., Unicomb, L., Luby, S., and Parsonnet, J. (2015). Safety and acceptability of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 and *Bifidobacterium longum* subspecies *infantis* 35624 in Bangladeshi infants: a phase I randomized clinical trial. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 1-6.

Hsieh, P. Y. H. and Ofori, J. A. (2007). Innovations in food technology for health. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16(S1), 65-73.

Huang, C. B., Alimova, Y., Myers, T. M. and Ebersole, J. L. (2011). Short-and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. *Archives of Oral Biology*, 56(7), 650-654. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.01.011>

Hwanhlem, N., Chobert, J. M. and Aran, H. (2014). Bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from mangrove forests in southern Thailand as potential bio-control agents in food: isolation, screening and optimization. *Food Control*, 41, 202-211. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.021>

Iacono, A., Raso, G. M., Canani, R. B., Calignano, A. and Meli, R. (2011). Probiotics as an emerging therapeutic strategy to treat NAFLD: focus on molecular and biochemical mechanisms. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(8), 699-711. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.10.002>

İnanç, N., Şahin, H. ve Çiçek, B. (2005). Probiyotik ve prebiyotiklerin sağlık üzerine etkileri. *Erciyes Tip Dergisi*, 27(3), 122-127.

Jones, P. J. (2002). Clinical nutrition: 7. Functional foods—more than just nutrition. *Canadian Medical Association Journal*, 166(12), 1555-1563.

Kabak, B. and Dobson, A. D. (2011). An introduction to the traditional fermented foods and beverages of Turkey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(3), 248-260. <https://doi.org/10.1080/10408390903569640>

Karabiyıklı, S. ve Erdoğmuş, S. (2019). Peynir üretiminde mikroorganizmaların rolü ve önemli mikroorganizma grupları. *Journal of New Results in Engineering and Natural Sciences*, 9(35), 35-45.

Karaçıl, M. S., ve Acar, N. (2013). Dünyada üretilen fermenter ürünler: tarihsel süreç ve sağlık ile ilişkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(2), 163-174.

Kazancıgil, E. (2018). *Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş laktik asit bakterilerinin bazı teknolojik özelliklerinin belirlenmesi* [Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi].

Kezer, G. (2019). *Doğal ekşi hamurlardan laktik asit bakterilerin izolasyonu ve tanımlanması ile bazı probiyotik özelliklerinin saptanması*. [Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi].

Kılıç, S. (2001). Süt endüstrisinde laktik asit bakterileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları* No:542, 1. Baskı, 451s, İzmir.

Kiran, F. (2006). Hücre duvarı protein profilleri ve pilazmid içeriklerine göre laktik asit bakterilerinin moleküller tanısı. *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.

Kırma, I. (2016). *Gıda kaynaklı laktik asit bakterileri kullanılarak ekzopolisakkartit üretimi*. [Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi].

Kızılaslan, N. ve Solak, İ. (2016). Yoğurt ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, (12), 52-59.

Kim, H. S., Park, H., Cho, I. Y., Paik, H. D. and Park, E. (2006). Dietary supplementation of probiotic *Bacillus polyfermenticus*, Bispan strain, modulates natural killer cell and T cell subset populations and immunoglobulin G levels in human subjects. *Journal of Medicinal Food*, 9(3), 321-327. <https://doi.org/10.1089/jmf.2006.9.321>

Klein, D.A., Prescott, L.M. and Harley, J. (2005). Microbiologi. McGraw-Hill, New York.
Kopp-Hoolihan, L. (2001). Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 101(2), 229-241. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(01\)00060-8](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(01)00060-8)

Kopp-Hoolihan, L. (2001). Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 101(2), 229-241.

Köse, Ş. ve Ocak, E. (2014). Yoğurtta lezzet bileşenlerinin oluşumu ve bu oluşum üzerine etki eden faktörler. *Akademik Gıda*, 12(2), 101-107.

Krapez, K. M., Abram, V., Kac, M. and Ferjancic, S. (2001). Determination of organic acids in white wines by RP-HPLC. *Food Technology and Biotechnology*, 39(2), 93-100.

Lourens-Hattingh, A. and Viljoen, B. C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11(1-2), 1-17. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00036-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00036-X)

Magnusson, J., Ström, K., Roos, S., Sjögren, J. and Schnürer, J. (2003). Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS microbiology letters*, 219(1), 129-135. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(02\)01207-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(02)01207-7)

Mangalat, N., Liu, Y., Fatheree, N. Y., Ferris, M. J., Van Arsdall, M. R., Chen, Z., ... and Rhoads, J. M. (2012). Safety and tolerability of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 and effects on biomarkers in healthy adults: results from a randomized masked trial. *Plos One*, 7(9), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043910>

Mazahreh, A.S. ve Ershidat, O.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.

Menteş, Ö., Akçelik, M., Ercan, R. (2004). Türkiye'de üretilen ekşi hamurlardan *Lactobacillus* suşlarının izolasyonu, identifikasiyonu ve bu suşların temel endüstriyel özellikleri. *Gıda*, 29(5), 347-355.

Moreno, M. F., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E. and De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106(1), 1-24. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.026>

Mu, Q., Kirby, J., Reilly, C. M. and Luo, X. M. (2017). Leaky gut as a danger signal for autoimmune diseases. *Frontiers in immunology*, 598. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00598>

Mu, Q., Tavella, V. J., and Luo, X. M. (2018). Role of *Lactobacillus reuteri* in human health and diseases. *Frontiers in microbiology*, 9, 757. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00757>

Omak Keskin, G. (2020). *Yenilebilir mantarın bazı lactobacillus türlerinin gelişmesi üzerine etkisi* [Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi]. <http://hdl.handle.net/11452/11138>

Önlü, H. (2018). *Laktik asit bakterilerinin bazı suşlarında L-laktik dehidrogenaz geni ile ilgili nakavt çalışmaları*. [Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi]. <http://hdl.handle.net/20.500.12575/69278>

Özden, A. (2005). Gastro-intestinal sistem ve probiyotik-prebiyotik synbiyotik. *Güncel Gastroenteroloji*, 9(3), 124-133.

Özden A. (2008). Diğer Fermente Süt Ürünleri. *Güncel Gastroenteroloji*, 12(3), 169-181.

Özer, B. (2007). Introduction to lactic acid bacteria. *Metabolism and Applications of Lactic Acid Bacteria*, 1-14.

Özlü, H. (2015). *Bazı Peynirlerden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bakteriyosin Üretme Yeteneği*. [Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi].

Pan, D. D., Wu, Z., Peng, T., Zeng, X. Q., and Li, H. (2014). Volatile organic compounds profile during milk fermentation by *Lactobacillus pentosus* and correlations between volatiles flavor and carbohydrate metabolism. *Journal of dairy science*, 97(2), 624-631.

Panesar, P.S. (2011). Fermented dairy products: starter cultures and potential nutritional benefits. *Food and Nutrition Sciences*, 2(1), 47-51.

- Patel, R. and DuPont, H. L. (2015). New approaches for bacteriotherapy: prebiotics, new-generation probiotics, and synbiotics. *Clinical Infectious Diseases*, 60(2), 108-121. <https://doi.org/10.1093/cid/civ177>
- Pfeiler, E. A., and Klaenhammer, T. R. (2007). The genomics of lactic acid bacteria. *Trends in Microbiology*, 15(12), 546-553. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.09.010>
- Qi, W. T., Ma, J., Yu, W. T., Xie, Y. B., Wang, W. and Ma, X. (2006). Behavior of microbial growth and metabolism in alginate-chitosan-alginate (ACA) microcapsules. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(5), 697-704. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.003>
- Ram, C. ve Bhavadasan, M. K. (2002). Probiotic dairy foods present status and future perspectives. *Indian Dairymen*, 54(4), 53-57.
- Rao, Y., Tao, Y., Li, Y., She, X., Yang, J., Qian, Y., ... and Xiao, H. (2019). Characterization of a probiotic starter culture with anti-Candida activity for Chinese pickle fermentation. *Food and Function*, 10(10), 6936-6944.
- Rasic, J. L. and Kurman, J. A. (1978). Yogurt technology, manufacture and preparation. *DK*, 27(20), 466.
- Rastall, R. A., Gibson, G. R., Gill, H. S., Guarner, F., Klaenhammer, T. R., Pot, B., ... and Sanders, M. E. (2005). Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: an overview of enabling science and potential applications. *FEMS Microbiology Ecology*, 52(2), 145-152. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2005.01.003>
- Rattanachaikunopon, P. and Phumkhachorn, P. (2010). Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Annals of Biological Research*, 1(4), 218-228.
- Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N. and Penna, A. L. B. (2012). Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications. *Food Engineering Reviews*, 4(2), 124-140.
- Rockland, L.B. and Nishi, S.K. (1980). Influence of water activity on food product quality and stability. *Food Technology* 34, 42-59.
- Ross, R. P., Morgan, S. and Hill, C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, 79(1-2), 3-16. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00174-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00174-5)
- Sağlam, H. ve Karahan, A. G. (2017). Laktik asit bakterilerinin plazmidleri ve bunların özellikleri. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(2), 252-285.
- Saikali, J., Picard, C., Freitas, M., and Holt, P. (2004). Fermented milks, probiotic cultures, and colon cancer. *Nutrition and cancer*, 49(1), 14-24.
- Salminen, S. and Wright, A. V. (1993). Future aspects in research and product development on lactic acid bacteria. *Lactic Acid Bacteria*, 429-432.
- Salminen, S. and Wright, A.V. (1998). Lactic Acid Bacteria Microbiology and Functional Aspects. *Marcel Dekker Inc*. New York, 617 p.
- Santiago-López, L., Hernández-Mendoza, A., Garcia, H. S., Mata-Haro, V., Vallejo-Cordoba, B. and González-Córdova, A. F. (2015). The effects of consuming probiotic-fermented milk on the immune system: A review of scientific evidence. *International Journal of Dairy Technology*, 68(2), 153-165. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12202>
- Sarantinopoulos, P., Kalantzopoulos, G. and Tsakalidou, E. (2001). Citrate metabolism by Enterococcus faecalis FAIR-E 229. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(12), 5482-5487. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.12.5482-5487.2001>

Schmidt, S. J. and Fontana Jr, A. J. (2020). E: water activity values of select food ingredients and products. *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*, 573-591. DOI:10.1002/9781118765982

Schnürer, J. and Magnusson, J. (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science and Technology*, 16(1-3), 70-78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.014>

Schrezenmeir, J. and de Vrese, M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 361s-364s. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.361s>

Sezgin, E. (1981). Yoğurt teknolojisi. *Segem*, 103, 120-108.

Shah, N.P. (2013). Health benefits of yogurt and fermented milks. *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*, Second Edition. Edited by Ramesh C. Chandan ve Arun Kilara, 433-450.

Shiby, V.K. ve Mishra, H.N. (2013). Fermented Milks and Milk Products as Functional Foods—A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 482-496.

Smid, E. J., and Kleerebezem, M. (2014). Production of aroma compounds in lactic fermentations. *Annual Review of Food Science and Technology*, 5, 313-326.

Songisepp, E., Hütt, P., Rätsep, M., Shkut, E., Kõljalg, S., Truuusalu, K., ... and Mikelsaar, M. (2012). Safety of a probiotic cheese containing *Lactobacillus plantarum* Tensia according to a variety of health indices in different age groups. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 5495-5509. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4756>

Stiles, M.E., and Holzapfel, W.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International journal of food microbiology*, 36(1), 1-29.

Stoloff, L. (1978). Calibration of water activity measuring instruments and devices: collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 61(5), 1166–1178.

Şekerden, Ö. ve Özktük, K. (1990). Büyükbaba hayvan yetiştirme. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı*, 122.

Şenel, E. (2006). *Bazı üretim parametrelerinin yoğurttan üretilen Yayık tereyağlarının nitelikleri üzerine etkisi*. [Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi].

Şimşek, B. ve Sağıdıç, O. (2006). Isparta ve yöresinde üretilen dolaz (tort) peynirinin bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(3), 346-351.

Talarico, T. L., Casas, I. A., Chung, T. C. and Dobrogosz, W. J. (1988). Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 32(12), 1854-1858. <https://doi.org/10.1128/AAC.32.12.1854>

Tamang, J.P. and Kailasapathy, K. (2010). *Fermented Foods and Beverages of the World*. CRC Press Newyork, United States of America, 435 p.

Tamime, A. Y. and Deeth, H. C. (1980). Yogurt: technology and biochemistry. *Journal of Food Protection*, 43(12), 939-977.

Tamime, A. Y. and Robinson, R. K. (2007). *Tamime and Robinson's yoghurt: science and technology*. Elsevier.

Tamime, A. Y. ve Robinson, R. K. (2001). *Yoghurt Science and Technology*. New York, USA: CRC Press.

Tangüler, H. ve Erten, H. (2006). Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü, Türkiye, 9.

Tassou, C. C., Panagou, E. Z. and Katsabokakis, K. Z. (2002). Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines. *Food Microbiology*, 19(6), 605-615. <https://doi.org/10.1006/fmic.2002.0480>

Taşkin, B. ve Bağdatlıoğlu, N. (2011). Süt ve fermentel süt ürünlerinin antioksidan özellikleri. *Akademik Gıda*, 9(5), 67-74.

Tekinşen, O. C. ve Atasever, M. (1994). Süt ürünleri üretiminde starter kültür. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayımları*.

Tian, H., Shi, Y., Zhang, Y., Yu, H., Mu, H., and Chen, C. (2019). Screening of aroma-producing lactic acid bacteria and their application in improving the aromatic profile of yogurt. *Journal of food biochemistry*, 43(10), e12837.

Todorov, S. D., Prévost, H., Lebois, M., Dousset, X., LeBlanc, J. G. and Franco, B. D. (2011). Bacteriocinogenic *Lactobacillus plantarum* ST16Pa isolated from papaya (*Carica papaya*)-From isolation to application: Characterization of a bacteriocin. *Food Research International*, 44(5), 1351-1363. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.027>

Tok, E. ve Aslim, B. (2007). Probiyotik olarak kullanılan bazı laktik asit bakterilerinin kolesterol asimilasyonu ve safra tuzları dekonjugasyonundaki rolleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37(1), 62-68.

Tomar, O., Çağlar, A. ve Akarca, G. (2017). Kefir ve sağlık açısından önemi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17(2), 834-853.

Tonguç İ.E., Yerlikaya O. ve Kınık Ö. (2012). *Lactobacillus reuteri*: fonksiyonel özellikleri ve probiyotik olarak kullanımı. *Süt Dünyası Dergisi*, 7(40), 71-75.

TS 591/T3 (2019). Beyaz peynir. Türk Standartları Enstitüsü.

TS EN ISO 8968-1. (2014). Süt ve süt ürünleri-Azot içeriği tayini-Bölüm 1: Kjeldahl prensibi ve ham protein hesaplanması. Türk Standartları Enstitüsü.

TS ISO 21527-2. (2014). Gıda zinciri mikrobiyolojisi - Mikroorganizmaların sayımı için yatay yöntem - Bölüm 2: Su aktivitesi 0,95'e eşit veya daha düşük olan ürünlerde koloni sayılm tekniği. Türk Standartları Enstitüsü.

Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. (2009). Türk gıda kodeksi fermentel süt ürünleri tebliği (tebliğ no: 2022/44). <https://scholar.google.com/schhp?hl=tr>

Urbach, G. (1995). Contribution of lactic acid bacteria to flavour compound formation in dairy products. *International Dairy Journal*, 5(8), 877-903.

Urrutia-Baca, V. H., Escamilla-García, E., de la Garza-Ramos, M. A., Tamez-Guerra, P., Gomez-Flores, R. and Urbina-Ríos, C. S. (2018). In vitro antimicrobial activity and downregulation of virulence gene expression on *Helicobacter pylori* by reuterin. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10(2), 168-175.

Ünlütürk A. ve Turantaş F. (1999). *Gıda Mikrobiyolojisi* 2.Baskı, Mengi Tan Basımevi, İzmir.
Valeur, N., Engel, P., Carbajal, N., Connolly, E. and Ladefoged, K. (2004). Colonization and immunomodulation by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 in the human gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(2), 1176-1181. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.2.1176-1181.2004>

Valeur, N., Engel, P., Carbajal, N., Connolly, E., and Ladefoged, K. (2004). Colonization and immunomodulation by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 in the human gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(2), 1176-1181.

Vollenweider, S., Grassi, G., König, I. and Puhan, Z. (2003). Purification and structural characterization of 3-hydroxypropionaldehyde and its derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3287-3293. <https://doi.org/10.1021/jf021086d>

Weizman, Z. and Alsheikh, A. (2006). Safety and tolerance of a probiotic formula in early infancy comparing two probiotic agents: a pilot study. *Journal of the American College of Nutrition*, 25(5), 415-419. <https://doi.org/10.1080/07315724.2006.10719554>

Widyastuti, Y. and Febrisiantosa, A. (2014). The role of lactic acid bacteria in milk fermentation. *Food and Nutrition Sciences*, 5(4), 435-442. DOI:10.4236/fns.2014.54051

Wood, B. J. B. and Holzapfel, W. H. (1995). The genera of lactic acid bacteria, Blackie Academic and Professional. *Jour. Glasgow, United Kingdom.*

Yakit, S. (2019). *Antimikroiyal aktiviteye sahip laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve antimikroiyal aktivitenin kısmi karakterizasyonu*. [Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi].

Yalçın, B. C. (1981). Genel Zootekni (Ders Kitabı). *İstanbul Univ. Vet. Fak. Yayınları Rektörlük*, (2769).

Yalçın, S. ve Yurdakök, K. (2000). Gastrointestinal sistem hastalıklarında probiyotik kullanımı. *Katkı Pediatri Dergisi 2000*, 21(1), 122, 138.

Yaygın, H. (1999). Akdeniz Üniversitesi Basımevi. *Antalya, 331s.*

Yaygın, H. ve Kılıç, S. (1993). Süt endüstrisinde saf kültür. *Altındağ Matbaacılık*, 107.

Yıldırım, A. E. ve Altun, R. (2014). Obezite ve mikrobiyota. *Güncel Gastroenteroloji*, 18(1), 106-111.

Yılmaz, L. (2006). *Yoğurt Benzeri Fermente Süt Ürünleri Üretiminde Farklı Probiyotik Kültür Kombinasyonlarının Kullanımı* [Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi].

Yörük, G. ve Güner, A. (2011). Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması ve *Weissella* türlerinin gıda mikrobiyolojisinde önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 6(2), 163-176.

Yücel Şengün, İ. (2011). Fermente gıdaların üretiminde kullanılan laktik asit bakterileri. *Biological Diversity and Conservation*, 4(1), 42-53.

Zalán, Z., Hudáček, J., Štětina, J., Chumchalová, J. and Halász, A. (2010). Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media. *European Food Research and Technology*, 230(3), 395-404.

Zhao, X. and Gänzle, M. G. (2018). Genetic and phenotypic analysis of carbohydrate metabolism and transport in *Lactobacillus reuteri*. *International journal of food microbiology*, 272, 12-21.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Berfin ALTUNDAL
Eğitim	
Lise	Özel Şanlı Kale Temel Lisesi (2012-2016)
Lisans	Balıkesir Üniversitesi Mühendislik Fakültesi (2016-2020)
Yüksek Lisans	Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı (2020-Devam)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	58,75 (e- Yökdil)
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Kuruluş Adı	-