

**FARKLI KEFİR DANELERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN BİYOKİMYASAL VE FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevim SOYTÜRK

DANIŞMAN

Doç. Dr. Gökhan AKARCA

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Ekim 2024

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI KEFİR DANELERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN BİYOKİMYASAL VE FİZYOLOJİK
ÖZELLİKLERİ

Sevim SOYTÜK

DANIŞMAN

Doç. Dr. Gökhan AKARCA

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Ekim 2024

TEZ ONAY SAYFASI

Sevim SOYTÜRK tarafından hazırlanan “Farklı Kefir Danelerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Biyokimyasal ve Fizyolojik Özellikleri” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 16/10/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Gökhan AKARCA

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Özge ÖZCAN
Kırklareli Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu

Üye : Doç. Dr. Gökhan AKARCA
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KILINÇ
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
...../...../..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. Bekir YALÇIN
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

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

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bir üniversite veya başka bir üniversitede başka bir dönem projesi olarak sunmadığımı

beyan ederim.

16/10/2024

İmza

Sevim SOYTÜRK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI KEFİR DANELERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN BİYOKİMYASAL VE FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Sevim SOYTÜRK

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Gökhan AKARCA

Bu araştırmada yapılan çalışmayla beraber yerel ve kültürel anlamda arşiv oluşturarak literatürdeki bilgilerle kıyas yapmak için Afyonkarahisar, Ankara, İzmir bölgelerinden temin edilen Kafkas ve Kırgız kefir türlerindeki biyolojik özelliklerle kefir danesi içerisindeki laktik asit bakterisi türlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Afyonkarahisar bölgesine ait 6 laktik asit bakterisi, İzmir bölgesine ait 25 adet laktik asit bakterisi, Ankara bölgesine ait 50 adet laktik asit bakterisiyle çalışılmıştır. İzole edilen laktik asit bakterilerinin gelişme oranları ortalama değerleriyle 10°C sıcaklıkta %100 oranında, %4 tuz konsantrasyonunda %89 oranında ve büyük çoğunlukla pH;5,0 – pH;6,0 aralığında gelişme göstermiştir.

Yapılan araştırma sonucunda Afyon, Ankara ve İzmir bölgelerinde en fazla izole edilen laktik asit bakterisi cinsinin sırayla %50, %86 ve %69,57 oranlarından *Lactobacillus* türü olduğu belirlenmiştir. İzole edilen bakterilerin tamamı el alındığında ise en fazla izole edilen laktik asit bakterisi suşu %75,28 oranıyla *Lactobacillus* türü olurken en az izole edilen laktik asit bakterisinin %1,12 oranıyla *Bifidobacterium* türü olduğu görülmektedir. Diğer laktik asit bakterisi suşlarından *Lactococcus* türü için %44,49, *Streptococcus* türü için %15,73, *Leuconostoc* türü için %3,37 olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra test izolatları API test kitleriyle tanımlar doğrulanmıştır.

Yapılan analizler neticesinde izole edilen laktik asit bakterisi türlerinin tamamının gram pozitif ve katalaz negatif olduğu görülürken %51'inin üreaz aktivesitesi pozitif olarak belirlenmiştir. Sıcaklık olarak gelişme yüzdelerinin en yüksek olduğu sıcaklıkların 10°C ve 37°C olduğu belirlenmiştir. 4 farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme incelendiğinde

en fazla gelişme oranının %4 daha sonrasında da %6 olduğu belirlenmiştir. Şekerden fermentasyonu ile en fazla gaz oluşturma yüzdesine sahip şeker %17 oranıyla galaktozdur. En fazla bulanıklık gözlenen şeker türleri ise %55, %54, %53 oranlarıyla sırasıyla maltoz, laktoz, glikozdur.

9 şeker türü için tüm bölgelerdeki gaz oluşumu yüzdesi %9, bulanıklık oluşumu yüzdesi %43 olarak belirlenmiştir. Gaz oluşumu oluşumu izole edilen laktik asit bakterilerinin %91 oranında homofermantatif olduğunu göstermektedir.

Yapılan varyasyon analizlerinde Afyon bölgesi için; pH değişiminin, bakteri gelişimi üzerindeki etkisinin Kırgız kefir türünde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ancak her iki kefir türünde de bakteri çeşitliliğinin sonuç üzerinde negatif etkisi olduğu görülmektedir.

İzmir bölgesi için yapılan varyasyon analizi sonucunda hem bakteri çeşitliliğinin hem de pH değişiminin, bakteri farklılığı üzerinde 0.01 seviyesinde pozitif etkisi olduğu görülmektedir. pH bakteri farklılığının her iki kefir türü için de aynı olduğu belirlenmiştir.

Ankara bölgesi için bakteri çeşitliliğinin, bakteri farklılığı üzerinde etkisi olmadığı ancak pH çeşitliliğinin her iki kefir türü için de 0.01 seviyesinde pozitif etkisi olduğu görülmektedir.

Yapılan çalışmada en fazla izole edilen laktik asit bakterileri %5,61 oranında *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus viridescens*, *Streptococcus thermophilus* bakterileri, en az izole edilen laktik asit bakterileri ise %1,12 oranında *Lactobacillus kefirgranum*, *Lactobacillus hilgardi*, *Leuconostoc lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus hilgardi*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus rhamnusus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactococcus chungangensis*, *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus rhamnusus*, *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc* spp., *Streptococcus avium*, *Streptococcus kefir*, *Streptococcus lactis* bakterileridir.

İzolasyon sonucunda Afyon bölgesinden en fazla izole edilen laktik asit bakterisi türünün %50 oranıyla *Lactobacillus* spp. cinsi olduğu, İzmir için en fazla izole edilen laktik asit

bakterisi türünün %70 oranıyla *Lactobacillus* olduğu, Ankara bölgesinde de %86 oranıyla *Lactobacillus* spp. cinsi olduğu belirlenmiştir.

İzole edilen laktik asit bakterilerinin bölgeler arasında yüzdelik farklılıklarının olması kefir danesinin türünden, sütün yapısının, geleneksel yöntemle elde edilen kefirin ortamdan herhangi bir bulaşı olmasından ve endüstriyel farklılıktan kaynaklanmaktadır. İzole edilen laktik asit bakterileri yapılan araştırmalarla desteklenmekte olup prosesten ve çalışma koşullarından dolayı farklılık göstermektedir.

2024, xvi + 103 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kefir danesi, Laktik Asit Bakterisi, İzolasyon, Biyolojik Özellikler

ABSTRACT

Master Thesis

BIOCHEMICAL AND PHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM DIFFERENT KEFIR GRAINS

Sevim SOYTÜRK

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Consultant: Doç. Dr. Gökhan AKARCA

In this study, it was aimed to determine the biological properties of Caucasian and Kyrgyz kefir types obtained from Afyonkarahisar, Ankara, and Izmir regions and the lactic acid bacteria species in kefir grains in order to create a local and cultural archive and compare with the information in the literature. 6 lactic acid bacteria from Afyonkarahisar region, 25 lactic acid bacteria from Izmir region, and 50 lactic acid bacteria from Ankara region were studied. The growth rates of the isolated lactic acid bacteria showed an average growth rate of 100% at 10°C, 89% at 4% salt concentration, and mostly in the pH range of 5.0 - pH range of 6.0.

As a result of the study, it was determined that the most isolated lactic acid bacteria species in Afyon, Ankara and Izmir regions was *Lactobacillus* species with rates of 50%, 86% and 69.57%, respectively. When all the isolated bacteria are considered, the most isolated lactic acid bacteria strain is *Lactobacillus* with a rate of 75.28%, while the least isolated lactic acid bacteria is *Bifidobacterium* with a rate of 1.12%. Other lactic acid bacteria strains were found to be 44.49% for *Lactococcus*, 15.73% for *Streptococcus*, and 3.37% for *Leuconostoc*. Later, the diagnoses were confirmed with API test kits for the test isolates.

As a result of the analyzes, it was seen that all of the isolated lactic acid bacteria species were gram positive and catalase negative, while 51% of them had positive urease activity. It was determined that the temperatures with the highest growth rates were 10°C and 37°C. When the growth was examined at 4 different salt concentrations, it was determined that the highest growth rate was 4% and then 6%. The sugar with the highest gas formation

rate from sugar fermentation is galactose with a rate of 17%. The sugar types with the highest turbidity are maltose, lactose, and glucose with rates of 55%, 54%, and 53%, respectively.

For 9 sugar types, gas formation percentage in all regions was determined as 9% and turbidity formation percentage as 43%. Gas formation shows that the isolated lactic acid bacteria were 91% homofermentative.

In the variation analyses conducted for the Afyon region; it was determined that the effect of pH change on bacterial growth was greater in the Kyrgyz kefir type. However, it was observed that bacterial diversity had a negative effect on the result in both kefir types.

As a result of the variation analysis conducted for the Izmir region, it was observed that both bacterial diversity and pH change had a positive effect on bacterial diversity at the level of 0.01. It was determined that the pH bacterial difference was the same for both kefir types.

For the Ankara region, it was observed that bacterial diversity had no effect on bacterial diversity, but pH diversity had a positive effect at the level of 0.01 for both kefir types.

In the study, the most isolated lactic acid bacteria were *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus viridescens*, *Streptococcus thermophilus* bacteria at 5.61%, and the least isolated lactic acid bacteria were *Lactobacillus kefirgranum*, *Lactobacillus hilgardi*, *Leuconostoc lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus hilgardi*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus rhamnexus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactococcus chungangensis*, *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus rhamnexus*, *Lc. lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis* *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc spp.*, *Streptococcus avium*, *Streptococcus kefir*, *Streptococcus lactis* bacteria.

As a result of the isolation, it was determined that the most isolated lactic acid bacteria species from Afyon region was *Lactobacillus spp.* with a rate of 50%, the most isolated lactic acid bacteria species for Izmir was *Lactobacillus* with a rate of 70%, and the most

isolated lactic acid bacteria species for Ankara region was *Lactobacillus* spp. with a rate of 86%.

The percentage differences of isolated lactic acid bacteria between regions are due to the type of kefir grain, the structure of the milk, any contamination of kefir obtained by traditional methods from the environment and industrial differences. The isolated lactic acid bacteria are supported by research and vary due to the process and working conditions.

2024, xvi + 103 sayfa

Keywords: Kefir Grain, Lactic Acid Bacteria, Isolation, Biological Properties

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın konusu, analiz aşamalarının ilerlemesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı sürecinde yapmış olduğu büyük katkılardan dolayı tez danışmanım ve yol gösteren Sayın Doç. Dr. Gökhan AKARCA' ya ve her konuda öneri ve eleştirileriyle yardımcı olan hocalarıma çok teşekkür ederim.

Beni her zaman gördüğünü inandığım melek annem başta olmak üzere süreç boyunca bana her anlamda destek olan aileme, laboratuvar ve yazım sürecinde yardımlarını esirgemeyen meslektaşım doktorant Ayşe Janseli DENİZKARA' ya teşekkür ederim.

Sevim SOYTÜRK
Afyonkarahisar, 2024

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
RESİMLER DİZİNİ.....	xvi
1 GİRİŞ	1
2 LİTERATÜR.....	4
2.1 Fonksiyonel Gıdalar	4
2.2 Probiyotikler	5
2.3 Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar	7
2.4 Kefirin Tarihçesi	9
2.5 Kefir.....	10
2.6 Kefir Danesi	12
2.7 Laktik Asit Bakterileri	13
2.7.1 Zorunlu Homofermentatif Laktik Asit Bakterileri	15
2.7.2 Fakültatif Heterofermentatif Laktik Asit Bakteriler	15
2.7.3 Zorunlu Heterofermentatif Laktik Asit Bakteriler.....	16
2.8 Laktik Asit Bakterilerinin Önemi.....	17
2.9 Kefirde Laktik Asit Bakterileri	18
2.9.1 <i>Lactobacillus</i>	18
2.9.2 <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>	19
2.10 Kefirde Mayalar.....	20
2.10.1 <i>Kluyveromyces marxianus</i>	20
2.11 Yapılan Çalışmalar	20

3	MATERYAL ve METOT	24
3.1	MATERYAL	24
3.2	METOT.....	24
3.2.1	Laktik Asit Şüpheli Bakterilerinin Eldesi	24
3.2.1.1	Gram Boyama.....	25
3.2.1.2	Laktik Asit Bakterilerinin Mikroskopik Görüntüleri.....	26
3.2.1.3	Katalaz Testi.....	26
3.2.1.4	Üreaz Aktivitesi.....	26
3.2.1.5	Farklı Sıcaklıklarda Gelişme.....	27
3.2.1.6	Farklı pH Değerlerinde Gelişme	27
3.2.1.7	Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme	27
3.2.1.8	Farklı Şeker Türlerinde Fermantasyonları	28
4	BULGULAR	29
4.1	Gram Boyama, Katalaz ve Üreaz Aktivitesi.....	29
4.2	Farklı Sıcaklıklarda Üreme.....	33
4.3	Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Üreme.....	40
4.4	Farklı pH Değerlerinde Üreme	47
4.5	Farklı Şeker Türlerinde Üreme	51
4.6	Farklı Şeker Türlerinde Gaz Oluşumu ve Bulanıklık.....	54
4.7	Kefir Danesinden İdentifiye Edilen Laktik Asit Bakterileri.....	78
5	TARTIŞMA VE SONUÇ	82
5.1	Gram Boyama, Katalaz ve Üreaz Aktivitesi.....	82
5.2	Farklı Sıcaklık Değerlerinde Gelişme	84
5.3	Farklı Tuz Değerlerinde Gelişme.....	85
5.4	Farklı pH Değerlerinde Gelişme	86
5.5	Farklı Şeker Türlerinde Fermantasyonları.....	88
5.6	Farklı Şeker Türlerinde Gaz Oluşumu ve Bulanıklık.....	89
5.7	Kefir Danesinden İdentifiye Edilen Laktik Asit Bakterileri.....	91

6	SONUÇ	93
7	KAYNAKÇA	97
	ÖZGEÇMİŞ.....	103



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

atm	Atmosfer
°C	Derece Santigrat
P	Fosfat
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
CO ₂	Karbondioksit
L	Litre
mL	Mililitre
O ₂	Oksijen
cm	Santimetre
NaCl	Sodyum klorür
H ₂ O	Su
%	Yüzde

Kısaltmalar

ADP	Adenozin Difosfat
ATP	Adenozin Trifosfat
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
MRS	Demann Rogosa Sharp (Agar - Broth)
GRAS	Generally Recognized As Safe
kob	Koloni Oluşturma Birimi
LAB	Laktik Asit Bakterileri
pH	Potansiyel Hidrojen
TOS	Propionate Agar
ST	Streptococcus thermophilus Isolation Agar
Subsp	Subspecies
TGK	Türk Gıda Kodeksi
vb.	ve benzeri
G	Gaz oluşumu
B	Bulanıklık

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 LAB tarafından gerçekleştirilen glukoz fermantasyonunun metabolik yolları	16
Şekil 4.1 Üç bölgeye ve Genel toplama ait üreaz aktivitesi.....	32
Şekil 4.2 Afyonkarahisar bölgesine ait farklı sıcaklıklarda gelişme yüzdeleri	36
Şekil 4.3 İzmir bölgesine ait farklı sıcaklıklarda gelişme yüzdeleri.....	37
Şekil 4.4 Ankara bölgesine ait farklı sıcaklıklarda gelişme yüzdeleri.....	38
Şekil 4.5 Üç bölgeye ait farklı sıcaklıklarda toplam gelişim yüzdeleri	39
Şekil 4.6 Afyon bölgesine ait farklı tuz konsantrasyonlarında üreme yüzdeleri.....	43
Şekil 4.7 İzmir bölgesine ait farklı tuz konsantrasyonlarında üreme yüzdeleri	44
Şekil 4.8 Ankara bölgesine ait farklı tuz konsantrasyonlarında üreme yüzdeleri	45
Şekil 4.9 Üç bölgeye ait farklı tuz konsantrasyonlarında toplam gelişme yüzdeleri.....	46
Şekil 4.10 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için fruktozda gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri.....	59
Şekil 4.11 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için fruktozda bulanıklık gözlemlenme yüzdeleri	60
Şekil 4.12 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için sükrozda gaz oluşturma/oluşturmama yüzdeleri.....	61
Şekil 4.13 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için sükrozda bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri.....	62
Şekil 4.14 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için maltozda gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri.....	63
Şekil 4.15 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için maltozda bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri.....	64
Şekil 4.16 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için galaktozda gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri.....	65
Şekil 4.17 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için maltozda bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri.....	66
Şekil 4.18 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için galaktozda gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri.....	67
Şekil 4.19 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için glikozda bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri.....	68

Şekil 4.20 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için mannitolda gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri.....	69
Şekil 4.21 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için mannitol bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri.....	70
Şekil 4.22 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için ksilozda gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri.....	71
Şekil 4.23 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için ksilozda bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri.....	72
Şekil 4.24 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için laktozda gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri.....	73
Şekil 4.25 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için laktozda bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri.....	74
Şekil 4.26 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için sorbitolde gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri.....	75
Şekil 4.27 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için sorbitolde bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri.....	76
Şekil 4.28 Tüm şeker türleri için gaz oluşumu yüzdeleri.....	77
Şekil 4.29 Tüm şeker türleri için bulanıklık yüzdeleri	77
Şekil 4.30 Her bir bölge için izole edilen laktik asit bakterileri ve yüzdeleri	81

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar	7
Çizelge 2.2 Kefirin karakteristiklerini belirleyen etmenler.....	11
Çizelge 2.3 Bazı laktik asit bakterilerinin fermentasyon metebolizması.....	14
Çizelge 2.4 Kefir ve kefir danesinde mikroflora türleri.....	18
Çizelge 3.1 LAB besiyerleri ve inkübasyon gereksinimleri.....	25
Çizelge 4.1 Afyonkarahisar bölgesinde izole edilen bakterilerin gram boyama, katalaz ve üreaz aktivitesi.....	30
Çizelge 4.2 İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin gram boyama, katalaz ve üreaz aktivitesi	30
Çizelge 4.3 Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin gram boyama, katalaz ve üreaz aktivitesi	31
Çizelge 4.4 Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı sıcaklıkta gelişimi	33
Çizelge 4.5 İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı sıcaklıkta gelişimi	33
Çizelge 4.6 Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı sıcaklıkta gelişimi	34
Çizelge 4.7 Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi	40
Çizelge 4.8 İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi	40
Çizelge 4.9 Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi	41
Çizelge 4.10 Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı pH değerlerinde gelişimi	47
Çizelge 4.11 Afyonkarahisar bölgesi Kırgız kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri	47
Çizelge 4.12 Afyonkarahisar bölgesi Kafkas kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri	47
Çizelge 4.13 İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı pH değerlerinde gelişimi	48
Çizelge 4.14 İzmir bölgesi Kafkas kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri	48

Çizelge 4.15 İzmir bölgesi Kafkas kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri	49
Çizelge 4.16 Ankara bölgesinden izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı pH değerlerinde gelişme	49
Çizelge 4.17 Ankara bölgesi Kafkas kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri	50
Çizelge 4.18 Ankara bölgesi Kırgız kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri	51
Çizelge 4.19 Şeker Konsantrasyonunun pH Değerleri (inkübasyon öncesi)	51
Çizelge 4.20 Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker konsantrasyonlarında pH değişimi (inkübasyon sonrası)	51
Çizelge 4.21 İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker konsantrasyonlarında pH değişimi (inkübasyon sonrası)	52
Çizelge 4.22 Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker konsantrasyonlarında pH değişimi (inkübasyon sonrası)	53
Çizelge 4.23 Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker türlerindeki gaz oluşumu ve bulanıklık değerleri	55
Çizelge 4.24 İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker türlerindeki gaz oluşumu ve bulanıklık değerleri	56
Çizelge 4.25 Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker türlerindeki gaz oluşumu ve bulanıklık değerleri	57
Çizelge 4.26 Afyonkarahisar bölgesine ait laktik asit bakterilerin tanısı.....	78
Çizelge 4.27 İzmir bölgesine ait laktik asit bakterilerinin tanısı	78
Çizelge 4.28 Ankara bölgesine ait laktik asit bakterilerinin tanısı	79

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 2.1 Kefir danelerinden izole edilen ve R-CW agarda yetiştirilen *Lactobacillus* cinsinin iki yeni türünün fotomikrografları. (A) *L. kefirgranum* (B) *L. parakefir* 19



1 GİRİŞ

Günümüzde doğal ürünlere ve fonksiyonel gıdalara olan ilginin artmasıyla beraber probiyotiklerin market rafındaki yerleri de çoğalmıştır. Fermente gıdaların uzun prosesleri olmasından dolayı probiyotik gıdaların üretiminde laktik asit bakterileri yaygın olarak kullanılmaktadır (Akman 2009).

Son zamanlarda bilinçli tüketici kitlesinin sindirim sistemi florasının sağlık üzerindeki olumlu etkileri ve beslenme yoluyla sağlıklı beslenme amacıyla beraber fonksiyonel gıda kavramı ortaya çıkmaktadır. Fonksiyonel gıdaların tanımı “Besinsel değerin yanısıra sağlık üzerinde pozitif katkılar sağlayan gıda veya gıda bileşenleri” şeklinde yapılmaktadır (Huggett ve Verschruren 1996, Akman 2009).

Fonksiyonel gıda pazarında büyük bir yer kaplayan probiyotiklerin FAO’ya göre tanımı “Yeterli düzeyde alındığında sağlık üzerinde olumlu etkileri olan canlı mikroorganizma” şeklinde yapılmıştır (Biçer vd. 2022).

Gıda sanayisinde fonksiyonel gıda ürünlerinde kullanılan, önemli fonksiyonlara sahip gıda ürünü de probiyotiklerdir. Başta kefir olmak üzere çeşitli fermente süt ürünleri, yoğurtlar, peynir çeşitleri, bebek mamaları ve çaylar probiyotiklerin başlıca kullanım alanıdır. Bağırsak mikroflorasında canlı kalabilen ve konakçısı üzerinde faydalı etkileri olan probiyotikler, dolaylı ya da doğrudan, insan sağlığının korunmasına ve iyileştirilmesine katkı sağlar. Probiyotikler hem sağlık alanında hem de gıda sanayisindeki uygulamalarının etkilerini, gelişimlerini destekleyen prebiyotik bileşiklerle simbiyotik bir ilişki sağlayarak arttırır (Bakacak 2024).

Probiyotik mikroorganizmaların çoğunluğunu genellikle laktik asit bakterileri oluştururken bazı farklı küfler, maya veya bakteriler de probiyotik gıda / preparat olarak hazırlanmasında kullanılır (Ateş 2019).

Probiyotik mikroorganizma olarak günümüzde çeşitli cinslerin suşları kullanılırken en yaygın kullanılan cinsler; *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus*’lardır (Bakacak 2024).

Prebiyotik bakteri açısından oldukça zengin olan tüketimi yaygın bir gıda ürünü de kefirdir. 19. yüzyılda yapılan Rus bilim insanların yaptığı çalışmalarda yoğurtta

prebiyotik bakteri sayısının iki, kefirdeki prebiyotik bakteri sayısının ise 25-30 olduğu belirlenmiştir. Geçmiř zamanlardan bugüne kadar kefir dñnyanın birçok yerine yayılan ve insanların severek tñkettiđi içecek haline gelmişti (Akarca vd. 2017).

Kefire olan ilgi artışıyla firmaların da üretime aldığı içecek haline gelmiştir. Her farklı firmanın farklı üretim yñntemi ve üretiminde kullandığı farklı mikroorganizma çeşidiyle beraber kefirler farklılık gñstermektedir. Buna karşın genel olarak piyasada starter kñltr kullanılarak inek sütünden elde edilen kefirlerin tñketimi yaygındır. Kefir adına yapılan çalışmalar ise her geçen gün artmaktadır (Akarca vd. 2017).

Kefir, kefir danelerinin sütte fermentasyona bırakılmasıyla oluşan, prosesinde laktik asit fermentasyonu ve etil alkol fermentasyonu gñrlen fermente süt ürünüdür. Kefirin diğer fermente süt ürünlerinden farklı olan en belirgin özelliği, kefir danesindeki mikroorganizmaların alkol fermentasyonları ile laktik asit fermentasyonlarının aynı anda gerçekleşmesidir (Akarca vd. 2017, şahin 2023).

Kefir mikrobiyatasından izole edilen, simbiyotik ilişki içinde olan çok sayıda maya, laktik asit ve sayıca az da olsa asetik asit bakterileri mevcuttur. Laktik asit bakterileri, mayalar, asetik asit bakterileri, streptokoklar ve bunlara ek olarak leukonostoklar, kefir danesinde bulunan bakteri türleridir (Din 2008).

Kefir danesinde bakteri türleri olarak laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri, streptokoklar, leukonostoklar ve bunlara ek olarak mayalar bulunmaktadır (Din 2008).

Fizyolojik, morfolojik ve metabolik karakterlerle gram pozitif olan bakteriler, laktik asit bakterilerinin büyük bir kısmını meydana getirir. Bu grupta yer alan bakterilerin genel tanımı; sitokroma sahip olmayıp spor oluşturmayan, katalaz negatif, gram pozitif, aerobik olmayan fakat aerotolerant, asidi tolere edebilen, kuvvetli fermentatif olmanın yanı sıra şeker fermentasyonu sırasında başlıca son ürün olarak laktik asit üreten çubuk ya da kok şeklinde bakterilerdir (İşleroglu vd. 2008).

Sebze, et, süt gibi besin içeriği olarak zengin olan gıdalarda genellikle laktik asit bakterileri bulunurken bununla beraber bazı türleri bağırsak, vajina ve ağızda da bulunmaktadır (İşleroglu vd. 2008).

Günümüzde gıdayla bağlantısı bulunan Laktik asit bakterilerine örnek olarak *Carnobacterium*, *Weissella*, *Streptococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Vagococcus* ve *Enterococcus* gibi cinslerin türlerini verilebilir (Akarca vd. 2017).

Kefirin sağlık açısından yararlı prebiyotik içeceği olmasıyla beraber yağlı, tam yağlı, ya da yağsız farklı süt çeşitleri ve meyve kombinasyonu ile beraber tüketici tarafından sevilerek tüketilen içecek haline gelmiştir. Bu durumdaki en büyük etken de içerdiği bileşenlerin yanı sıra fermantasyon aşamasında da meydana gelen yararlı bileşenlerin insan sağlığı üzerine etkileridir.

Bakterilerin bilimsel adlandırılması ve taksonomisine ilişkin çalışmalar yıllardan beri devam ederken sürekli değişimlere karşı son 30 – 40 yılda önem kazanmıştır. Kefir gibi yaygın olarak tüketilen prebiyotik bir içecek için de her geçen gün çalışmalar artmaktadır.

2 LİTERATÜR

2.1 Fonksiyonel Gıdalar

Birden fazla gıda bazlı malzemenin potansiyel sağlık ya da tıbbi özelliklere sahip olduğuna yönelik kanıtlar artmaktadır. Bu tür ürünler, gıda ve ilaç arasındaki gri alanda yer alır ve “fonksiyonel gıda” olarak tanımlanır (Huggett ve Verschruren, 1996).

Taranan kaynaklarda fonksiyonel gıdanın olarak tanımlanan çok fazla kavrama rastlanmıştır, bunlardan bazıları ;

- sağlık gıdaları
- nutrasötikler,
- tıbbi gıdalar,
- özel beslenme amaçlı gıdalar,
- farmakolojik gıdalar gibi terimlerdir (Bayram vd. 2013).

Tüketilen gıdaların fizyolojik, besleyici ve duysal 3 fonksiyonu vardır. Duyusal, besleyici fonksiyonlar her gıdada bulunmasına karşın fizyolojik fonksiyon gıdaların bazılarında mevcuttur. Fakat son dönemlerde gıdalara uygulanan birtakım teknolojik işlemlerle gıdalara fizyolojik özellikler kazandırılmaktadır (Bayram vd. 2013).

Fonksiyonel gıda üretiminde amaç; negatif fizyolojik etkiye sahip olan bileşeni gıdanın içeriğinden kısmen ya da tamamen uzaklaştırarak yerine faydalı fizyolojik etkinliğe sahip bileşenin eklenmesidir (Bayram vd. 2013).

Temel beslenmenin sağlık üzerine katkısının yanı sıra sağlık açısından ek olarak faydalı gıdalardan olan fonksiyonel gıdalar hastalık riskini en aza indirme, tedaviyi hızlandırma ya da genel olarak sağlıklı halini koruma özelliğine sahip olduğu için kullanımları yaygınlaşmıştır. Bazı fonksiyonel gıdaların sağlıkla ilgili özellikleri, gıdaların doğal içeriğinden gelse de, diğer fonksiyonel gıdaların sağlık yararları, gıdaların orijinal özelliklerini değiştiren bileşenlerin eklenmesinden kaynaklanır. Bunların arasında diyet lifi, değiştirilmiş proteinler, antioksidanlar, oligosakkaritler, peptitler, karbonhidratlar,

minerallar ve fotokimyasallarla mikroorganizmalar gibi doğal maddeler yer alır (Huggett ve Verschruren 1996).

Son yıllarda gitgide artan sağlıklı beslenme bilinciyle fonksiyonel gıdalara talep artmıştır. Bu ürünlerin üretim maliyetinin diğer gıda ürünlerinden rakamca yüksek olmasına rağmen, sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı tüketimle beraber sağlık giderlerinin azalmasıyla üretici şirketlerin de fonksiyonel gıdaya olan merak her gün artmaktadır (Bayram vd. 2013).

Fonksiyonel gıdalar için ilk çalışmalar, Japon hükümetinin 1984'teki girişiyle başlamıştır. 1991'de onay alınan Sağlıklı Gıda Tüzüğü'ne göre, günümüzde Japonya'da fonksiyonel gıda lisansını alan 300'ün üzerinde ürün bulunmaktadır (Bayram vd. 2013).

Günlük beslenme programlarında yaygın olarak tüketilen fonksiyonel gıdalar için tüketilme gerekçeleri aşağıdaki gibi sıralanabilir;

- teknolojinin yanı sıra bilimdeki hızlı gelişmeler,
- azalmakta olan genç nüfus
- hastalıkların tedavi fiyatlarındaki artış
- gıda pazarındaki sistemlerdeki değişiklikler
- bilinçli tüketici portföyü

Gelecekteki fonksiyonel gıdaların birçoğunun halihazırda diyetle bulunan ve yararlı sağlık iddialarıyla yeniden ilişkilendirilen gıda bileşenleri olması mümkündür (Huggett ve Verschruren, 1996).

2.2 Probiyotikler

Probiyotik terimi “pro” ve “bios” kelimelerinden türetilen Yunanca kökenli bir terimdir. İlk defa 1965 yılında ise probiyotik için “bir mikroorganizma tarafından salgılanan ve diğerinin gelişmesini sağlayan madde” olarak tanımlandı ve bu gerekçeyle antibiyotik terimiyle kıyaslandı. (Pérez-Sánchez vd. 2012).

Gıda Tarım Örgütü ve Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO) tarafından 2001 yılında probiyotiklerin tanımı “yeterli dozda alındığında konakçısına sağlıklı etki oluşturan canlı” olarak yapılmıştır. Konakçı üzerinde klinik anlamda etki gösterebilmesi için gereken değer ince bağırsakta 10^6 kob/mL’ken kolonda 10^8 kob/g’dır. (Bakacak 2024).

Probiyotikler, sağlıklı bir bireyin sindirim sisteminde ve mukozal yüzeylerde barınan, kolonize olmuş canlı mikroorganizmalardır. Bağırsaktaki mikrobiyal dengeyi koruyarak patojenleri inaktive etme amacıyla konağa etki ederler. Bağırsak florasını meydana getiren 500 kadar farklı cinsten patojen mikroorganizma veya probiyotik, insanın sindirim sisteminde uyum içinde yaşarlar (Ateş 2019).

Probiyotiklerin sahip olması gereken özellikler (Bakacak 2024);

- Patojen olan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki göstermeli
- Toksin meydana getirmemeliler
- Hem patojen aktivitelerine karşı hem de gıda alerjilerine karşı bağışıklık sistemini güçlendirmeliler
- Klinik faaliyetlerinin belirlenmiş olması gerekir
- Düşük pH değerlerinde canlılıklarına devam edebilmeliler
- Gıdaya eklenecek olanların ürünün kalitesini bozmamalıdır
- Hızlı gelişmeliler.

Kısaca bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kullanılabilmesi için seçim kriteri olarak sağlık açısından yararlı etkiye sahip olması, iyi hayatta kalması, güvenli olması ve probiyotik ürün üzerinde duyuusal etkisinin olmaması vb. özelliklerinin olması lazım (Aktaş 2010).

Probiyotikler ;

- zararlı olan patojen sayılarının azaltılması,
- bağırsak için pH değerinin düşürülmesi
- mikrobiyal metabolizmayı düzenlemesi
- kolonizasyonun önüne geçilmesi
- bağışıklık sisteminin düzenlenmesiyle beraber güçlenmesi

gibi yararlı etkilerde bulunur (Biçer vd. 2022).

Prebiyotik ürünler, probiyotik mikroorganizmaları barındıran taşıyıcı gıdalar ya da içeriğinde probiyotik mikroorganizma içeren değişik vitamin, enzim ve aroma bileşenleri ile desteklenerek doğrudan kapsül / tablet şekline getirilmiş insan sağlığı için destekleyici preparatlardır (Ateş 2019).

Probiyotik mikroorganizmalarının büyük bir grubunu Laktik asit bakterileri meydana getirir. Bunlar çoğunlukla gram pozitif olan ve spor oluşturmeyan bakterilerdir. Katalaz ve oksidaz negatif, anaerob veya fakültatif anaerob, asit toleranslı, hareketsiz, genellikle kok veya çubuk şeklindedirler, karbon kaynağı olarak yalnızca karbonhidratları kullanırlar ve karbonhidrat fermantasyonunun ana son ürünü olarak laktik asit üretirler (Yiğit 2023).

2.3 Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

Probiyotikler fermente gıdalar için en önemli kaynaklardır. Bifidobakteriler ve Laktik Asit Bakterileri başta olmak üzere bazı mayalar (*Saccharomyces* cinsi türler; *S. cerevisiae*, *S. boulardii*, *S. bayanus* ve *Candida* cinsi; *Candida torulopsis* gibi), bazı küf türleri (*Aspergillus* türlerinden; *A. niger*, *A. oryzae* gibi) probiyotik özellik taşımaktadır (Bakacak 2024).

Çizelge 2.1 Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar (Ateş 2019)

<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>L. brevis</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. amylovorus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. gallinarum</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. johnsonii</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. Salivarius</i>
<i>Streptococcus</i> spp.	<i>S. salivarius</i> subsp. <i>Thermophilus</i>
<i>Lactococcus</i> spp.	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Leuconostoc</i> spp.	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>Pediococcus</i> spp.	<i>P. pentosaceus</i> , <i>P. acidilactici</i>
<i>Bifidobacteria</i> spp.	<i>B. adolescentis</i> , <i>B. animalisc</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. essensis</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. laterosporus</i> , <i>B. longum</i>

Çizelge 2.1 (Devam) Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar (Ateş 2019)

<i>Propionibacteria</i>	<i>P. freudenreichii</i> , <i>P. acidipropionici</i> , <i>P. thoenii</i> , <i>P. jensenii</i>
spp	
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i> ,
spp.	
<i>Bacillus türü</i>	<i>B. alcalophilus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. clausii</i> , <i>B. coagulans</i> , <i>B. subtilis</i>
Diğer bakteri	<i>Escherichia coli</i> , <i>Sporolactobacillus inulinosa</i>
Maya	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (<i>boulardii</i>)

Farklı probiyotik türleri (laktik asit bakterileri) ve prebiyotikler (sindirilmeyen karbonhidratlar, peptitler, proteinler ve bazı lipitler) ve bunların bağırsak sağlığı üzerindeki çeşitli etkileri vardır. Ayrıca insanlarda probiyotik olarak kullanılması düşünülen en yaygın mikroorganizmalar olan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* (Vuyst vd. 2004).

Probiyotikler, yeterli miktarda tüketildiğinde sağlığa fayda sağladığına inanılan canlı mikroorganizmalardır. Genellikle "iyi" veya "dost" bakteriler olarak adlandırılan bu mikroorganizmalar belirli gıdalarda, takviyelerde ve fermente ürünlerde bulunabilir. En yaygın probiyotik türleri *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine aittir, ancak diğer türler de faydalı olabilir. Dengeli bir bağırsak mikrobiyomunu teşvik ederek, inflamatuvar bağırsak hastalığının (IBD) semptomlarını yöneterek, idrar yolu enfeksiyonlarını önleyerek ve ağız sağlığını iyileştirerek sindirim sağlığını destekleme potansiyelleriyle bilinirler (Ghorbal 2023).

Birçok probiyotik mikroorganizma, karbonhidrat fermantasyonu sonrasında tepkimenin son ürünü olarak laktik asit üreten laktik asit bakterileri. Buna karşın *Propionibacterium*, *Bacillus* ve *Escherichia* türleri gibi laktik asit bakterileri olmayan bazı probiyotikler de mevcuttur. Ayrıca *K. lactis* gibi bazı maya türleri de probiyotik olarak kullanılmıştır. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşları probiyotik olarak başlıca kullanılan mikroorganizmalardır (Aktaş 2010).

Güçlü probiyotiklere sahip olan fermente süt ürünlerinin başında kefir gelir. Kefirin dışındaki dünya çapında süt ürünlerine bakıldığında birçoğunun laktik asit bakterileri tarafından fermantasyona tabii tutulduğu görülmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların

vücuda alınmasıyla onların sağladığı mikrobik metabolitlerle fonksiyonel gıda ürünü oluşmaktadır (Arda 2020).

Kefir içeriğindeki probiyotik bakteri ve çeşitli maya birlikteliği ile eşsiz bir probiyotik içecektir. Kefir danelerinin sütte fermentasyonu ile oluşan kefir, sütün içerdiği temel besin içeriğinin hemen hemen birçoğunu barındırır. Bu besin içeriği kefirin prosesinde mikroorganizmalar tarafından oluşan fermentasyonla laktoz ve proteinlerin yıkılması, biyoaktif maddelerin meydana gelmesi ve bazı vitaminlerin sentezlenmesi sonucunda besin değeri arttırılmış hale gelmektedir. Tüm bu proseslerin sonucunda fermente süt ürünü olan kefir, daha kolay sindirilebilen ve içeriğinde besin maddeleri sindirim sistemi tarafından daha kolay emilebilen şifalı probiyotik haline gelir (Akarca vd 2017).

2.4 Kefirin Tarihçesi

Kefir içeceği asidik, viskoz yapıda olan, ekşi tatlı ve hafif alkollü, kefir danesinin süt ile fermentasyonu ile fermente süt ürünüdür. Sözcüğünün Türkçe “keyif veren, mest eden, sarhoş edici” karşılığı olduğu bazı kaynaklar tarafından öne sürülürken bazı kaynaklarda ise Kafkasya orijinli “en iyi yapılan” anlamına geldiği belirtilmektedir (Şahin 2023).

Kefir, laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve *Torula* mayalarını içeren kefir danelerinin sütü fermente etmesiyle elde edilen, ekşi ve ferahlatıcı, kökeni Kuzey Kafkasya’ya dayanan bir içecektir. Kısaca özetlemek gerekirse kefir geleneksel yollarla elde edilen ve laktik asit bakterileri, mayalar gibi mikroorganizmalar tarafından başta sütteki laktoz olmak üzere laktik asit ve alkol fermentasyonları ile parçalanması sonucu elde edilen geleneksel bir üründür (Atılğan 2018).

Fermente süt ürünlerinin ve kefir tüketiminin insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler yaptığı birçok çalışmada belirtilmiştir. Özellikle sütün fermentasyonu sonucunda meydana gelen ve biyoaktif gıda bileşenleri olarak adlandırılan bazı bileşenlerin bu noktada önemli bir yere sahip olduğu belirlenmiştir. Kefir, yüzyıllardır geleneksel olarak tüketilen ve son yıllarda bilimsel araştırmaların da odağında olan fermente bir süt ürünüdür. Bu araştırmalar, kefirin insan sağlığı üzerinde oldukça geniş bir yelpazede faydalı etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Bu faydalı etkilere örnek olarak, bağışıklık sistemini güçlendirmesi, kolesterolü ve kan şekerini düzenlemesi, antimikrobiyal ve

antikarsinojenik etkiye sahip olması, laktoz intoleransını hafifletmesi vb. etkilere örnek verilebilir (Akarca vd. 2017).

İnek, koyun, keçi ve deve sütü gibi farklı süt çeşitlerinden üretilen kefirin bileşimi, sütün yağ miktarı, üretim metodu, inkübasyon koşulları ve starter kültür kompozisyonuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Kefirin ferahlatıcı etkisi, LAB ve mayalar tarafından üretilen çeşitli bileşenlerin bir kombinasyonundan kaynaklanır. Asetaldehit, aseton, CO₂, laktik asit ve sitrik asit, kefire kendine özgü ferahlık ve ekşilik hissi veren bileşenlerdir. Mayalar, CO₂ üreterek ve aromatik bileşiklerin oluşumuna katkıda bulunarak bu ferahlatıcı etkiye önemli katkı sağlarlar (Ünal, 2013).

2.5 Kefir

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre kefirin tanımı "Fermentasyonda, kefir danesine has belirleyici mikroorganizmalar olan *L. kefiranofaciens*, *L. kefiri*, *L. kefirgranum*'dan en az ikisini, laktozu fermente eden mayalardan *K. marxianus* ve etmeyen mayalardan *Saccharomyces* spp.'yi zorunlu olarak içeren bunun yanında *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Acetobacter* ve benzeri bakteri cinslerine ait türler ile farklı maya türlerini de bulundurabilen kefir danelerinin veya starter kültürlerin kullanıldığı fermente süt ürününü" olarak yapılmaktadır (Anonim 2022)

Kefir daneleri sütün fermante prosesinde; organik asit, alkol, karbondioksit ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal bileşikler, biyoaktif peptidler gibi fonksiyonel bileşikler, kefiran gibi potansiyel prebiyotik aktivitesi olan heteropolisakkarit meydana gelir. Sağlık açısından faydalı olduğu bilinen kefirin antialerjenik, antimikrobiyal, antihipertansif, antienflamatuar, antitümör ve kolesterol düşürücü etkileri olduğu saptanmıştır (Şahin 2023).

Kefiran, galaktoz ve buna eş miktarda glikoz içeren bir heteropolisakkarittir. *Lactobacillus kefiranofaciens* tarafından üretilir. Kefir tanesinin büyük bir kısmını oluşturan kefiran içinde bakteri ve mayaları, polisakkarit yapıda matriksi barındırır (Akarca vd. 2017, Şahin 2023).

Laktik asit bakterileri çok eski zamanlardan beri fermente gıda ve yem üretiminde kullanılmakla beraber günümüzde de fermente ürünler için starter olarak kullanılmaktadır (Erikçi 2004).

Mikrobiyolojide bakteri tanımlama, türlerin doğru şekilde belirlenmesi ve bu bilginin çeşitli uygulamalarda kullanılması için önemli bir alandır. Fenotipik ve genotipik yöntemler, bakterilerin türlerini ve özelliklerini doğru bir şekilde tanımlamak için kullanılır. Doğru tanı, insan sağlığı ve çevresel koruma için kritik önem taşır (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011).

Çizelge 2.2 Kefirin karakteristiklerini belirleyen etmenler (Akarca vd. 2017)

Hammadde ile ilgili faktörler	
Yağ miktarı	
İnokulumun uygulanma şekli	
Kullanılan sütün cinsi	
İnokulum kaynağı	
Proses Değişimleri	Son Ürünün Karakteristikleri
Fermantasyon Sıcaklığı	Doku
Fermantasyon süresi	Mikrobiyal kompozisyon
Danelerin uzaklaştırılıp/ uzaklaştırılmaması	Tat - aroma
Olgunlaşma süresi ve sıcaklığı	Kimyasal kompozisyon
Son Ürüne Bağlı Faktörler	
Depolama süresi	
Aroma eklenmesi	

Her bakteri grubunun kendine ait bir biyokimyasal özellikleri olmaktadır. Başka bir ifadeyle, her bakteri kendine özgü enzimlere sahip olup, belirli maddeleri yine kendine özgü bir biçimde metabolize ederek çeşitli yapım ya da yıkım ürünleri oluşturur (Sevgili vd. 2021).

Kefir, kendine özgü lezzetini ve dokusunu, fermantasyon işleminde yer alan çeşitli mikroorganizmalara borçludur. Bu mikroorganizmalar, laktik asit, aromatik bileşikler, CO₂ ve alkol gibi kefir için önemli bileşenleri üretirler (Akarca vd. 2017).

Kefirdeki Laktik Asit Bakterileri (Ataman 2020):

- Homofermantatif LAB: Bu bakteriler laktozu sadece laktik aside dönüştürürler. En yaygın homofermantatif LAB türleri şunlardır:
 - *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*
 - *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*
 - *Lactobacillus plantarum*
- Heterofermantatif LAB: Bu bakteriler laktozu fermente ederken laktik asit, etanol, asetaldehit ve CO₂ gibi yan ürünler de üretirler. En yaygın heterofermantatif LAB türü *Lactobacillus kefiranofaciens*'tir.

Kefirdeki Mayalar:

- Laktozu fermente eden mayalar: Bu mayalar laktozu fermente ederek etanol, asetaldehit ve CO₂ üretirler. Kefire ekşi ve ferahlatıcı bir tat verirler. En yaygın laktoz fermente eden maya türleri şunlardır:
 - *Saccharomyces cerevisiae*
 - *Saccharomyces unisporus*
 - *Kluyveromyces marxianus* ssp. *marxianus*
- Laktozu fermente etmeyen mayalar: Bu mayalar laktozu fermente edemezler, ancak kefire aroma ve doku katabilirler.
 - *Candida kefyr*

2.6 Kefir Danesi

Kefir daneleri 0.3 – 2 cm çapında, düzensiz irili ufaklı şekillerdir. Karnabahar parçasına benzetilen danenin yüzeyi girintili çıkıntılı olup elastik yapıda ve beyaz veya hafif sarımtırak renktedirler. Daneler, mikrobiyel hücreler ve bunların metabolik ürünleriyle pıhtılaşmış süt proteinleri ve karbonhidratlardan oluşur. Kefiran, kefir üretiminde kritik bir öneme sahiptir. Bu bileşik, LAB ve mayaların aktivitesini artırarak fermantasyon sürecini hızlandırır, laktik asit, aromatik bileşikler, CO₂ ve alkol oluşumuna katkıda bulunur. Bu sayede kefir, kendine özgü lezzetini, dokusunu ve faydalarını kazanır. Kefirin duyuusal özelliklerini bu bileşikler oluştururken hem fermantasyon sürecinde hem de depolama boyunca söz konusu bileşiklerin miktarları değişim gösterir (Taş, 2010)

Kefir, besin değeri açısından oldukça zengin bir gıdadır. İçeriğinde bulunan protein, karbonhidrat, yağ, vitaminler ve mineraller onu sağlıklı bir beslenme programının önemli bir parçası haline getirir (Ataman, 2020).

Kefirin ortalama besin değerleri (100 gram için) (Ataman, 2020):

- Nem: %89-90
- Yağ: %0.2
- Protein: %3
- Şeker: %6
- Kül: %0.7
- Laktik asit: %1
- Alkol: Küçük miktarda
- CO₂: 1.98 g/L

2.7 Laktik Asit Bakterileri

Yüzyıllar önce yapılan araştırmalarla laktik asit bakterilerinin sadece sütte ekşime yapan bakteriler olmadığı, aynı zamanda tahıl fermantasyonu gibi diğer alanlarda da varlığı biliniyordu. 19. yüzyıllarda laktik asit bakterisinin tanımının filogenetik sınıfı yansıtmadığı fakat nadir de olsa bu türlerin metabolik özellikleri gösterdiği belirlenmiştir. 1919'de ise Orla-Jensen laktik asit bakterilerinin sınıflandırılmasını, ekolojisi, morfolojisi ve özellikle bakteri için en uygun gelişme sıcaklıkları olmak üzere başlıca fizyolojik özellikleri ele alarak sınıflandırma şeması oluşturmuştur (Yörük ve Güner 2011).

Laktik asit bakterinde tür ve soylar oldukça geniş kapsamlıdır. Etler, süt, tahıllar, vertebralıların gastrointestinal sistemi olmak üzere çeşitli alana yayılırlar. İnsanlarda, hayvanlarda ve özellikle gençlerde, sindirim sisteminde büyük öneme sahiptirler (Yörük ve Güner 2011).

Laktikler ile laktik asit bakterilerinin ortak özelliği laktik asit fermantasyonu sonucunda laktozdan, laktik asit oluşturmalarıdır. Bu fermantasyon ile besinlerdeki koku tat vb. organoleptik özelliklerin oluşumu sağlanır (Yörük ve Güner 2011).

Laktik asit bakterileri çok sayıda türü bulunan çubuk, kokobasil ve çubuk şekilde, Gr(+), spor oluşturmeyen hareketsiz mikroorganizmalardır. Ayrıca sitokramları yoktur, aside dayanıklıdır, nitratları indirgeyemezler, gelişimleri için amonyum ve glikozla beraber bazı aminoasit ve vitaminlere ihtiyaç duyarlar. Kuvvetli fermantatif olmakla beraber katalaz (-) ve mikroareofilik ya da anaerobiklerdir (Yörük ve Güner 2011).

Laktik asit bakterileri için optimum gelişme sıcaklığı 5-33°C, pH aralığı ise 5.5-5.8 aralığındadır. Antibakteriyel özelliğe sahip olan laktik asit bakterileri patojen özellik göstermemekle beraber saprofit ve patojen bakterilerin gelişmelerini inhibe eder (Küçükçuban 2012).

Birden fazla türü bulunan laktik asit bakterilerinin altgrupları arasındaki en önemli fark şekerlerin fermantasyonu ile açığa çıkan son ürünlerdir (Küçükçuban 2012).

Laktik asit bakterileri, glukozu fermente edebilme yeteneklerine göre ikiye ayrılır; homofermantatif (homolaktik) ve heterofermantatif (heterolaktik). Homofermantatif bakteriler fermantasyon tepkimesinin son ürünü olarak laktik asit üretir. Heterofermantatifler ise laktik asite ek olarak asetik asit, formik asit, asetaldehit, etanol, CO₂, diasetil ve asetoin gibi son fermantasyon ürünleri üretir (Boyacı 2018).

Bazı laktik asit bakterilerinin fermantasyon metabolizması Çizelge 2.3’de verilmiştir. (Boyacı 2018).

Çizelge 2.3 Bazı laktik asit bakterilerinin fermantasyon metabolizması (Boyacı 2018)

Türler	Zorunlu olarak homofermentatif	Fakültatif heterofermentatif	Zorunlu olarak heterofermentatif
<i>Lactococcus</i>	+		
<i>Pediococcus</i>	+		
<i>Streptococcus</i>	+		
<i>Enterococcus</i>	+		
<i>Weisella</i>			+
<i>Leuconostoc</i>			+
<i>Oenococcus</i>			+

Çizelge 2.3 (Devam) Bazı laktik asit bakterilerinin fermentasyon metabolizması (Boyacı 2018)

Türler	Zorunlu olarak homofermentatif	Fakültatif heterofermentatif	Zorunlu olarak heterofermentatif
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lb. acidophilus</i> <i>Lb. amylovorus</i> <i>Lb. farciminis</i> <i>Lb. helveticus</i> <i>Lb. mindensis</i> <i>Lb. salivarius</i> <i>Lb. amylolyticus</i> <i>Lb. manihotivorans</i> <i>Lb. suntoryeus</i> <i>Lb. satsumensis</i> <i>Lb. kefiranofaciens</i> <i>Lb. amylophilus</i> <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i> <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>indicu</i>	<i>Lb. paralimentarius</i> <i>Lb. paracasei</i> <i>Lb. pentosus</i> <i>Lb. plantarum</i> <i>Lb. curvatus</i> <i>Lb. casei</i> <i>Lb. sakei</i> <i>Lb. alimentarius</i> <i>Lb. rhamnosus</i> <i>Lb. kimchii</i> <i>Lb. graminis</i> <i>Lb. coryniformis</i> <i>Lb. cypricasei</i> <i>Lb. versmoldensis</i> <i>Lb. zeae</i> <i>Lb. acidipiscis</i>	<i>Lb. brevis</i> <i>Lb. buchneri</i> <i>Lb. fermentum</i> <i>Lb. reuteri</i> <i>Lb. sanfranciscensis</i> <i>Lb. hammesii</i> <i>Lb. spicheri</i> <i>Lb. kefir</i> <i>Lb. acidifarinae</i> <i>Lb. panis</i> <i>Lb. pontis</i> <i>Lb. reuteri</i> <i>Lb. suebicus</i> <i>Lb. zymae</i> <i>Lb. rossii</i> <i>Lb. parakefiri</i> <i>Lb. paracollinoides</i> <i>Lb. frumenti</i> <i>Lb. ferintoshensis</i> <i>Lb. durianis</i> <i>Lb. diolivorans</i>

2.7.1 Zorunlu Homofermentatif Laktik Asit Bakterileri

Zorunlu homofermantatif olan laktobasiller heksozu, glikoliz olarak da bilinen Embden – Meyerhof metabolik yoluyla laktik asite fermente ederler. Bu grupta 15 tür mevcuttur. Bu türler glukonat ve ribozu fermente edemezler, glukoz ve glukonattan ise gaz oluşturmazlar. Ayrıca tiamine gereksinim duymazlar. Gelişme aralıkları 15-45° C’dir. Aldolaz aktivitesine sahip olmakla beraber laktik asidi D, L veya DL formunda meydana getirirler (Küçükçuban 2012).

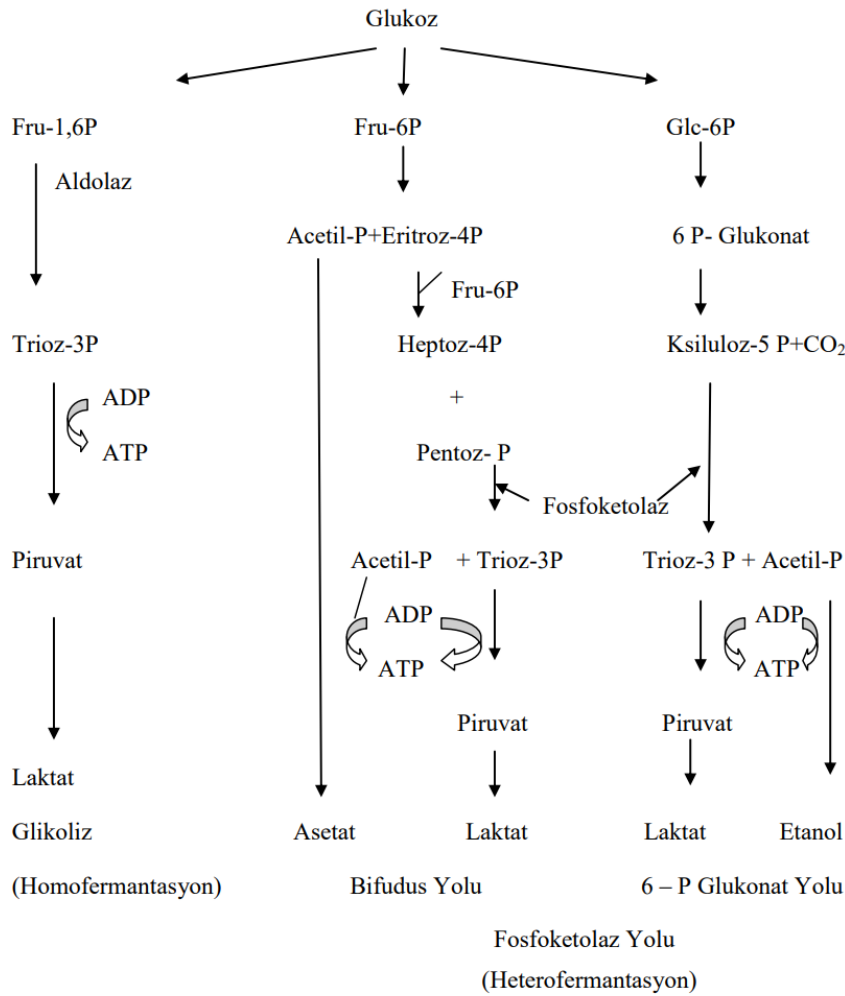
2.7.2 Fakültatif Heterofermentatif Laktik Asit Bakteriler

İkinci grup olarak fakültatif heterofermantatif laktobasiller de heksozların tamamını laktik asite fermente ederler, bunun yanı sıra pentozlardan laktik asit ve asetik asit oluşturma yeteneğine sahiptirler. Aynı şekilde heksozları Embden – Meyerhof yoluyla parçalamaktadırlar. Gelişme aralıkları 25 – 35 °C’dir (Küçükçuban 2012).

2.7.3 Zorunlu Heterofermentatif Laktik Asit Bakteriler

Heksozları %50'si laktik asit, etanol ve CO₂'ye fermente ederler. Fruktozdan ise mannitol, glukonatlardan gaz meydana getirirler. Zorunlu homofermantatif olanlarının aksine tiamine ihtiyaçları vardır ve aldolaz aktivitesi göstermezler. Glukoz – 6 – fosfat dehidrogenaz ve eşit olarak veya daha az 6 – fosfat glukonat dehidrogenaz aktivitesi oluştururlar. Foskoketolaz enzimi bulundururlar. DL laktik asit üretirler ve 15 ile 45 °C'de türlerine göre gelişim gösterirler. Bu gruptaki laktik asit bakterilerinin en karakteristik özelliği heksozlardan CO₂ oluşturmalarıdır (Küçükçuban 2012).

Karbonhidratları laktik aside parçalayabilme yeteneğine göre laktik asit bakterileri sınıflandırılmaktadır. Şekil 2.1'de bu laktik asit bakterilerinin glukoz başta olmak üzere karbonhidratları metabolize tepkimeleri verilmiştir (Küçükçuban 2012).



Şekil 2.1 LAB tarafından gerçekleştirilen glukoz fermentasyonunun metabolik yolları (Küçükçuban 2012)

Gıda endüstrisinde starter kültür olarak genelde laktik asit bakterileri kullanılmaktadır. Gıdalarda raf ömrünü uzatmak için laktik asit bakterilerinin bakteriyosin üretme özelliğinden yararlanılır ve potansiyel biyolojik koruyucu rolüne sahiptirler. Bazıları gıdalarda bozulmaya neden olurken bazıları da probiyotik ürünlerde bulunur. Bu kadar geniş yelpazede kullanılan laktik asit bakterileri hem endüstriyel açıdan hem de bilimsel arenada üzerinde yoğun çalışmaların yapıldığı oldukça önemli bir grup haline getirmiştir. LAB'ların endüstriyel uygulamaları ele alındığında, suş bazında güvenilir tiplendirme yöntemleri hem LAB starter kültürlerin performanslarının incelenmesinde hem de fonksiyonel gıda ürünlerinde katkı maddesi olarak kullanılacak olan kültürlerin incelenmesinde önem kazanmaktadır (Akarca vd. 2017).

2.8 Laktik Asit Bakterilerinin Önemi

Laktik asit bakterileri fermente et, sebze, meyve, tahıl, süt vb. gıdaların olgunlaştırması ve üretimi sürecinde rol oynarlar bu yüzden laktik asit bakterilerinin gıda teknolojisine katkısı büyüktür. Süt ve ürünlerinde asit oluşumu ya da aroma ve lezzetin oluşması, fermente et ürünlerinde olgunlaşma süresini kontrol edilmesi, dayanıklılık süresinin uzatılması vb. proseslerde çeşitli laktik asit bakterileri tek ya da kombineli olarak rol oynar (Yörük ve Güner 2011).

En eski gıda muhafaza yöntemlerinin başında, çeşitli gıdalar için LAB'nin temel alınması yöntemi vardır. Tüketicilerin de katkısız ve doğal ürünlere yöneliminin artmasıyla LAB potansiyel gıda koruyucusu olması önemini artırmıştır. Koruyucu kültür özelliği taşıyan laktik asit bakterileri "güvenli bakteriler" olarak tanımlanır. Gıdalarca sadece gıda kaynaklı olan patojenlerle bozulmaya sebep olan mikroorganizmaları inhibe ederek raf ömrünü uzatmak uzatmada kullanılırken gıdanın koku, tat gibi fiziksel özelliklerinde etki oluşturmeyen antogonistik kültürler ise "korucu kültürler" denilir (Yörük ve Güner 2011).

Hücrel morfoloji, glikoz fermentasyon modu, büyüme sıcaklığı aralıkları ve şeker kullanım modelleri LAB' nin sınıflandırılması için çok önemlidir ve moleküler yöntemler tanımlanan LAB sayısını artırmıştır. LAB ve mayalar ekşi maya üretimi için simbiyotik yaşam yaşarlar. Heterofermentatif LAB hamurun ayrılmasını sağlarken homofermentatif LAB ekmeğin elastikiyetini, asitliğini ve tadını etkiler (Sevgili 2023).

2.9 Kefirde Laktik Asit Bakterileri

Çizelge 2.4 Kefir ve kefir danesinde mikroflora türleri (Akarca vd. 2017)

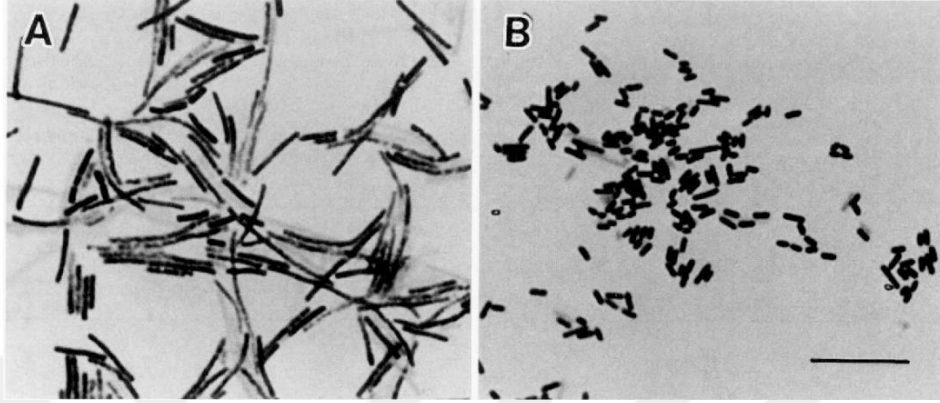
Laktobasiller	Laktokoklar	Mayalar
<i>Lactobacillus kefir</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	<i>Saccharomyces delbrueckii</i>
<i>Lactobacillus kefirgranum</i>	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Candida kefir</i>
<i>Lactobacillus parakefir</i>		<i>Kluyveromyces lactis</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>		<i>Issatchenkia orientalis</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>		<i>Saccaromyces unisporus</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Asetik Asit Bakteriler	<i>Saccharomyces exiguus</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Acetobacter</i> spp.	<i>Saccharomyces humaticus</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Acetobacter pasteurianus</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Acetobacter aceti</i>	<i>Saccharomyces turicensis</i>
<i>Lactobacillus casei</i>		<i>Pichia fermentas</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i>		<i>Torulopsis holmii</i>
<i>Lactobacillus fructivorans</i>		<i>Candida holmii</i>
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	Streptokoklar	<i>Torulospira delbrueckii</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Candida friedricchi</i>
<i>Lactobacillus viridescens</i>	<i>Streptococcus cremoris</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>	
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Streptococcus durans</i>	
<i>L. mesenteroides</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
<i>L. crispatus</i>		

2.9.1 Lactobacillus

Bu soydaki bakteriler laktik asit bakterilerinin iki ana türünden birisidirler ve basil şeklindedirler, gram pozitif, katalaz negatif ve spor oluşturmeyan bakterilerdir. Optimum gelişme sıcaklıkları 30 - 40 °C’dir fakat genel olarak 2-53°C’de de gelişebilirler. Hızla gelişmeleri için asidik ortama ihtiyaç vardır ve %1-3 oranında laktik asit üreterek *Streptococcus*’lardan daha fazla asit meydana getirirler bu da pH değerini 3.5’e kadar taşır (Yörük ve Güner 2011).

Proteolitik aktiviteleri de yüksektir. Oksijeni kullanma yeteneğine göre ikiye ayrılırlar; mikroaerofilik ve anaerob olup %5 CO₂ bulunan ortamlarda gelişme gösterirler. Bitki, süt ürünleri, bağırsak florası ve toprakta barınırlar ve dolayısıyla insan, hayvan mikrobiyotasının bir parçasıdır. Fermente süt, et ve sebze ürünlerinin eldesinde etkilidirler, fermentasyonun başlatıcısı olarak görev alır (Yörük ve Güner 2011, Georgalaki vd.2021).

1994 yılında yapılan araştırmalarda kefir danelerinden iki farklı tür izole edilmiştir; *Lactobacillus kefirgranum* spp. ve *Lactobacillus parakefir* spp. Her iki tür de fakültatif anaerobik, gram pozitif ve hareketsiz, zincirler halinde oluşan çubuk şeklindedirler (Takizawa vd.1994).



Resim 2.1 Kefir danelerinden izole edilen ve R-CW agarda yetiştirilen *Lactobacillus* cinsinin iki yeni türünün fotomikrografları. (A) *L. kefirgranum* (B) *L. parakefir* (Takizawa vd. 1994)

L. kefirgranum homofermantatif olarak DL laktik asit üretir. *L. Parakefir* ise heterofermentasyon yoluyla L-laktik asit ve karbondioksit üretir, hiçbir türünün hidrojen sülfid, katalaz ve oksidaz ürettiği görülmemiştir (Takizawa vd.1994).

2.9.2 *Lactobacillus kefiranofaciens*

Kefir danesinin ekosisteminde başlıca bulunan laktik asit bakterisi türlerinden birisi de *Lactobacillus kefiranofaciens* olup güçlü bir oto-agregasyona sahiptir. Bu yüzden de dane oluşumunda etkin rol oynar (Georgalaki vd.2021).

Lactobacillus kefiranofaciens iki alt türe sahiptir; *kefiranofaciens* ve *kefirgranum*. Fakat sadece *L. kefiranofaciens* kefir danesinin temel bileşeni olan, teknolojik ve sağlık açısından bilinen, polisakkarit olan kefiranın üretiminden sorumludur (Georgalaki vd.2021).

L. kefiranofaciens, büyüme koşulları açısından çok zorlu olmasına rağmen, bağırsak sağlığını, immünomodülasyonu, kan lipid seviyelerinin kontrolünü, hipertansiyonu, antimikrobiyal etkiyi ve diyabet ve tümörlere karşı korumayı etkileyen mekanizmalarda yer alabilir (Georgalaki vd. 2021).

2.10 Kefirde Mayalar

2.10.1 *Kluyveromyces marxianus*

K. marxianus karbon kaynağı laktoz olan aerobik bir mayadır. Fermente süt ürünlerinden, yoğurttan ve peynirden izole edilir ve endüstriyel alanda kullanıma uygundur. Isıya toleranslı olup hızlı büyüme özelliğine sahiptir. İnülinaz enziminden salgılanır ve etanol üretilmesini sağlar (Sevgili 2023).

S. cerevisia ve *K. lactis* gibi FDA tarafından tanımlanan GRAS (Generally Recognized As Safe) statüsüne sahiptirler. Bir diğer ortak özellik ise *S. cerevisia* gibi ekmekte kullanılabildiği için fırıncı mayası olarak bilinmektedir (Sevgili 2023).

2.11 Yapılan Çalışmalar

Uslu ve Yetişemiyen'in 2010 yılında yaptığı çalışmada Ankara bölgesinde satışa sunulan 5 farklı üreticiye ait (sade, meyveli ve diyet) kefirlerden oluşan 11 farklı kefir örneği 3 farklı zamanda toplanarak 33 örnek teste alınmış ve mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duysak özelliklikleri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada toplam aerobik mezofilik bakteri, maya sayısı, laktik asit bakterileri sayısı, kurumadde içeriği, yağ içeriği, protein içeriği, pH değeri, titrasyon asitliği değeri % laktik asit cinsinden, laktik asit içeriği, tirozin içeriği, viskozite değeri, tat-aroma değeri, kıvam değeri, genel beğeni değerleri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda Ankara piyasasında tüketime sunulan kefiirlere ait maya sayısı; protein ve yağ değerlerinin TKG 2009/25 No'lu Fermente Sütler Tebliği'nde belirtilen referans değerlere uygun olduğu belirlenmiştir. Ancak laktik asit bakterileri sayısı, laktik asit miktarı değerlerinin Tebliğ'de belirtilen referans değerlerden düşük olduğu görülmüştür (Uslu ve Yetişemeyen, 2010).

2020 yılında Sakarya Üniversitesi'nde Ataman tarafından yapılan çalışmada, laktozlu ve laktozsuz süttten kefir danesi kullanılarak üretilen kefiirlere çilek püresi katmanın kefirlerin fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duysal özellikleri üzerindeki etkisini incelemektedir. Çalışmada Endemik kuru kefir danesi kullanılarak geleneksel yöntemle kefir üretimi yapılmıştır. Süzülen daneler ikinci kez kullanılarak 8 farklı kefir örneği hazırlanmıştır. 2 kontrol grubu olmak üzere toplamda 10 kefir örneği üretilmiştir. Kefir

örneklerine %10, %15 ve %20 oranında çilek püresi ilave edilmiştir. Örnekler +4°C'de 1, 7, 14 ve 21. günlerde analiz edilmiştir. Depolama boyunca pH değerinde düşme gözlemlenmiştir. Çilek ilaveli örneklerin pH değerleri daha düşük bulunmuştur. Depolama sonunda kurumadde, viskozite ve sertlik değerlerinde azalma görülmüştür. pH değerleri, mikroorganizma sayıları ve duyu analizi sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, laktozsuz süttten üretilen kefirlerin raf ömrünün laktozlu süttten üretilen kefiirlere göre daha kısa olduğu görülmüştür. Duyusal analiz sonuçlarına göre en beğenilen kefir laktozlu süttten üretilen ve %15 çilek ilaveli kefir olmuştur. Bu durum, laktozlu süttten ve %15 oranındaki çilek püresinin kefirlerin duyu özelliklerini daha iyi hale getirdiği anlamına gelebilir (Ataman 2020).

Aliyev ve Dervişoğlu'nun 2006 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi'nde yürüttüğu çalışmada, kefir ve yaban mersini meyvesinin dondurmanın fizikokimyasal, duyu ve mikrobiyolojik özellikleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Farklı oranlarda kefir ve yaban mersini pulpu kullanılarak üretilen dondurmalar, pH, asitlik, kurumadde, yağ, azot, kül, viskozite, hacim artışı, erime süresi, renk, aroma, doku, görünüm, mikroorganizma sayısı gibi çeşitli parametreler açısından değerlendirilmiştir. Kefir ve yaban mersini konsantrasyonlarının artmasıyla dondurmanın asitliği artmış ve pH değeri düşmüştür. Meyve pulpu ilavesi, kül, azot, kurumadde, yağ, hacim artışı ve viskozitede azalmaya neden olmuştur. Kefir ve yaban mersini pulpu oranlarının artmasıyla dondurmanın erime direnci artmıştır. Meyve ilavesi Hunter L değeri (aydınlık) düşürmüştür. %30 kefir ve %30 yaban mersini içeren örnekler en yüksek aroma puanını almıştır. Yaban mersini ilavesi, dondurmadaki tüm test edilen mikroorganizmaların sayısını azaltırken, kefir ilavesi ise bu sayıları artırmıştır. Çalışma, kefir ve yaban mersininin dondurmanın duyu ve mikrobiyolojik özelliklerini geliştirmede potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Yaban mersini, dondurmaya renk ve antioksidan katarken, kefir ise doku ve probiyotik özellikler katmaktadır (Aliyev ve Dervişoğlu, 2006).

Al ve Küçükçetin'in 2018 yılında yaptığı çalışmada, farklı pH değerleri ve üretim yöntemlerinin kefir dondurmasının fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyu özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. 3 farklı pH değeri (5.5, 5.8 ve 6.1) ve 2 farklı üretim yöntemi kullanılarak kefir dondurmaları üretilmiştir. Birinci yöntemde dondurma miksleri kefir starter kültürü ile fermente edilmiştir. İkinci yöntemde ise kefir ve dondurma miksleri belirli oranlarda karıştırılmıştır. Kontrol grubu kefir veya kefir starter

kültürü içermeyen dondurmalarından oluşmuştur. Dondurmalar -20°C'de 90 gün süreyle depolanmış ve 1., 45. ve 90. günlerde analiz edilmiştir. pH değeri arttıkça dondurmanın viskozitesi, erime direnci ve sertliği azalmıştır. Birinci üretim yöntemiyle üretilen dondurmalarda ikincisine göre daha yüksek protein ve laktik asit içeriği gözlemlenmiştir. Her iki üretim yönteminde de pH değeri arttıkça dondurmadaki probiyotik bakteri sayısı azalmıştır. Duyusal analizlerde ise, birinci yöntemle üretilen dondurmaların ikincisine göre daha yüksek aroma, tat ve genel kabul puanı aldığı belirlenmiştir. Çalışmada, pH değeri ve üretim yönteminin kefir dondurmasının özelliklerini önemli ölçüde etkilediği görülmüştür. Birinci üretim yöntemiyle üretilen ve pH değeri 5.5 olan kefir dondurmaları, en yüksek probiyotik bakteri içeriği, viskozite, erime direnci ve duyusal kaliteye sahip olarak öne çıkmıştır.

Mikrobiyoloji alanında birçok gıda için identifikasyon çalışmaları devam etmektedir. Geniş bir alan olan mikrobiyoloji için her gıdada bulunan bakteri, maya türleri geniş bir yer tutmaktadır. Devam edilen çalışmalarla beraber bu yelpaze genişlerken içeriği bilinmesi gereken gıda ürünleri hala mevcuttur. Kefir de bu gıda ürünlerinden birisidir.

Her tüketici için tükettiği ürünün mikrobiyolojik içeriğini bilmek hakkıdır. Gıda güvenirliliğini koruyarak kefir için raf ömrünü uzatmak, bilinenin dışına çıkarak tüketici kitlesini genişletmek, daha güvenilir içecek haline getirmek, tüketiciye içeceğin biyokimyasal özelliklerini tanıtarak müşteri kitlesini arttırmak çalışmanın amaçları arasındadır.

Yapılan araştırmalarda daha çok yurtdışından getirilen starter kültürler kullanıldığı için dışarıya bağımlılık azaltılmak istenmektedir. Tübitak'tan destekle yürütülen projelerle birlikte yerel ve kültürel arşiv oluşturularak literatürdeki ile kıyas yapmak projenin bir diğer amaçları arasındadır. Ayrıca yapılan çalışmalarla fermente süt ürünleri endüstrisinin literatürüne de katkı sağlamak amaçlanmıştır.

Laboratuvarlarda bakterilerin ön tanı ve sınıflandırmalarında; üreme özellikleri, koloni morfolojisi ve Gram boyama karakterleri önemliyken cins ve tür düzeyinde identifikasyon için daha çok, bakterilerdeki özel enzim sistemlerinin incelenmesi, spesifik substrat ve kimyasal indikatör içeren besiyerlerindeki pH değişimlerinin ya da özel yan ürünlerin araştırılması esasına dayanan çok sayıda testler kullanılabilir. Bu testler yurtdışı kaynaklı olarak sağlandığı için alınan destekle beraber dışa bağımlılık

azaltılarak Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Gıda Mikrobiyoloji Laboratuvarında daha özgün çalışmaların yapılması hedeflenmiştir.

Bu çalışmada da Türkiye'nin 3 farklı bölgesinden (Afyonkarahisar, İzmir, Ankara) toplanan danelerden izole edilen laktik asit bakterilerinin biyokimyasal ve fiziksel özelliklerini tanımlayarak identifikasyonla sınıflandırmaya ve bu sayede yerel ve milli kültür koleksiyonumuzun oluşturulmasına katkı sağlamakla beraber Türkiye'de sıklıkla tüketilen kefir içeceği için fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Milli ve yerli olarak bu alanda bir çalışma yapılmadığı için bu çalışma ile dışa bağımlılık azaltılarak mikrobiyoloji alanında gelişim sağlanması hedeflenmektedir. Kefir ile ilgili birçok çalışma olmasına rağmen bilinen mikrobiyolojik analizlerin dışına çıkmadığı görülmüştür. Literatürde ismi geçen mikroorganizmalar için kefirde çeşitlilik artırılarak çalışma yapılırken daha geniş yelpazede bakteriler için analizler yapılmamıştır.

3 MATERYAL ve METOT

3.1 MATERYAL

Çalışmada kullanılan kefir daneleri Afyonkarahisar, İzmir ve Ankara illerinden Ocak, Nisan, Eylül aylarında temin edilmiştir. Aktarlardan temin edilen kefir danelerinden laktik asit bakterilerinin izolasyonu için ön hazırlık yapılmıştır. 3 farklı bölgeden temin edilen kefir danesi örnekleri Afyon Kocatepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir.

3.2 METOT

3.2.1 Laktik Asit Şüpheli Bakterilerinin Eldesi

Bu çalışmada 3 farklı şehirden alınan kefir daneleri örneklerinden laboratuvar ortamında ve aseptik koşullar altında ambalajlar açılarak steril poşetlere numuneler alınmıştır. Mikrobiyolojik analizler için her bir numuneden 10'ar g alınarak üzerine 90 mL $\frac{1}{4}$ kuvvetinde Ringer (115525, Merck, Almanya) çözeltisi eklendikten sonra stomacherde(Stomacher® 400 UK) 1,5 dakika orta hızda homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizattan, aynı seyreltme çözeltisi kullanılarak 10^{-6} oranına kadar seyreltmeler yapılmıştır. Seyreltmesi yapılan örnekler Çizelge 3.1'de bulunan agarlar ile inoküle edildikten sonra belirtilen inkübasyon koşullarında inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonunda besiyerlerinde gelişme gösteren koloniler morfolojik özellikleri dikkate alınarak Çizelge 3.1'de belirtilen besiyerlerine yeniden inoküle edilerek aynı sıcak, saat ve koşullarda tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Bu işleme koloniler tek tek saf gelene kadar devam edilmiştir. İnkübasyon sonunda saflık kontrolü yapılan isolatların, gram boyama analizleri yapılmıştır.

Laktik asit bakterilerinin için izolasyon yöntemlerinde en çok tercih edilen yöntemde MRS agar ve M17 agar kullanılır. Bunun nedeni; laktobasiller, pediokaklar ve löykonostoklar için MRS agarda 30°C'de 72 saat anaerobik inkübasyon; laktik streptokoklar için M17 agarda 30°C'de 48 saat inkübasyon koşullarının gerekmesidir (Sezer 2003).

Laktik asit bakterisi türlerinin tanımlanabilmesi için kefir danesi örneklerinden hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL steril pipet ile alınmıştır. MRS Agar (MRS:De Man, Rogosa and Sharpe) ve M17 agar besiyerlerine inoküle edilmiştir. Steril drigalski spatülü yardımıyla yaydıktan sonra 37°C’de aerobik koşullarda 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreci bitene kadar petriyer buzdolabında 0-4°C’de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1 LAB besiyerleri ve inkübasyon gereksinimleri

MRS Agar (Merck,1.10660 , Almanya)	<i>Lactobacillus</i> spp. türlerinin izolasyonu	37°C ’de, 48 saat, anaerob
MRS-D-Sorbitol Agar (Merck, 1.10660, Almanya)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ve <i>Lactobacillus casei</i> izolasyonu	37°C’de, 48 saat, anaerob
ST Agar (Himedia, M948, Hindistan)	<i>Streptococcus</i> spp. izolasyonu	37°C’de, 48 saat, aerob
TOS-Propionate Agar (Merck,1.00043, Almanya)	<i>Bifidobacterium</i> spp. izolasyonu	37°C’de, 72 saat, anaerob
MRS Broth (Merck, 1.10661 , Almanya)	Kültürlerin aktivasyonu	37°C’de, 48 saat, anaerob
M17 Broth (Merck, 1.15029, Almanya)	Kültürlerin aktivasyonu	37°C’de, 48 saat, anaerob

MRS:De Man, Rogosa and Sharpe ST:*Streptococcus thermophilus* Isolation Agar

3.2.1.1 Gram Boyama

Gram boyama Çırpıcı (2024)’ya göre yapılmıştır. Kefir danelerinden izole edilen muhtemel LAB’lerinin özelliklerinin belirlenmesi için gram boyama işlemi yapılmıştır. Besiyerlerinde geliştirilen genç kültürler lam üzerine alınarak alev ile fikse edilmiştir. Ardından kristal viyole, lügol çözeltisi, etil alkol ve karbol füksin ile boyanmıştır. İmmersiyon yağı yardımıyla mikroskopta (SOPtop, Mode:OD400UHW-P)*100’lük objektif ile incelenmiştir.

Gram boyama sonunda kefir danelerinden izole edilen laktik asit bakterilerinden objektif altında kırmızı renkli görünen izolatlar gram negatif, mavi renkli görünen bakteriler gram pozitif olarak değerlendirilmiştir (Çırpıcı 2024).

3.2.1.2 Laktik Asit Bakterilerinin Mikroskopik Görüntüleri

Gram boyama işlemine tabi tutulan kültürler mikroskop altında incelenerek morfolojik olarak birbirinden ayrıldıktan sonra uygun besiyerlerine yeniden inoküle edilerek Çizelge 3.1'deki koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Gram negatif bakteriler pembe renkli koloni oluştururken, gram pozitif bakterilerin mavi-mor renkli formlar oluşturduğu belirlenmiştir (Halkman 2005).

3.2.1.3 Katalaz Testi

Bu test ile elde edilen izolatların katalaz enzimine sahip olup olmadıkları belirlenmiştir. Katalaz enzimi, elektron transfer zincirinin sonunda açığa çıkan hidrojen peroksit (H_2O_2)'i parçalayıp, H_2O ve O_2 gazına dönüşüp ve O_2 gazının oluşumu, kabarcıklar şeklinde gözlenebilecektir. Aerobik solunum yapan veya fakültatif olan mikroorganizmalarda bu enzim vardır. Enzim varlığının araştırılması amacıyla öncelikle bakteriler MRS ve M17 agar besiyerlerinde 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra agar ortamında gelişen bakterilerden bir öze dolusu alınarak lam üzerine konulmuştur. Ardından bakteri üzerine bir damla %5'lik H_2O_2 damlatılmıştır. Öze ile dairesel hareketlerle bakterinin H_2O_2 içerisine nüfuz etmesi sağlanmıştır. Ardından kabarcık oluşması veya oluşmaması durumu gözlemlenmiştir. Kabarcık oluşturan bakterinin katalaz enzimini ürettiği ve katalaz pozitif olduğunu gösterirken, kabarcık gözlenmeyenler katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Arda 2000; Harley ve Prescott 2002; Adıgüzel vd.2006).

3.2.1.4 Üreaz Aktivitesi

Christensen üre besiyeri testi, laktik asit bakterilerin üre enzimini üretebilme yeteneklerini belirlemek için kullanılan bir biyokimyasal testtir. Üre enzimine sahip bakteriler, üre molekülünü parçalayarak amonyak ve karbondioksit oluştururlar. Kefir danelerinden izole edilerek saflaştırılan laktik asit bakterileri Christensen üre besiyerine inoküle edildikten sonra 37 °C'de 1-5 gün inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. 5 gün boyunca her gün kontrol edilen kültürlerde kırmızı renk meydana gelen besiyeri pozitif, değişiklik olmayan ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Yılmaz 2003).

3.2.1.5 Farklı Sıcaklıklarda Gelişme

Kefir danesinden izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı sıcaklık değerlerinde gelişimlerinin belirlenebilmesi için spesifik besiyerleri otoklavda 1 atm basınç altında 121°C’de 20 dakika steril edilmiştir. Sterilize işleminden sonra 45°C’ye soğutularak 12,5 mL petri kaplarına dökülmüştür. Petri kaplarına steril öze yardımıyla yayma işlemi yapılarak bakterilerin ekimi gerçekleştirilmiştir. İzole edilen laktik asit bakterilerinin gelişiminin gözlenmesi için besiyerleri 4°C – 10°C – 37°C – 45°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Güren 2024)

3.2.1.6 Farklı pH Değerlerinde Gelişme

Kefir danesinin izolesi için bakterilerin gelişim gösterdiği spesifik MRS Agar ve M17 besiyerleri otoklavda (NÜVE NC®) (121°C’de 20 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra 45°C’de soğutulan besiyerlerine HCl (hidroklorik asit) ilave edilerek pH=4,8’ye, sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi ile de pH=9.8 değerine ayarlanmıştır. Hazırlanan 3 farklı pH değerlerindeki besiyerleri 45°C’ye soğutularak 12,5 mL petri kaplarına dökülmüştür. Petri kaplarında soğutma işleminden sonra steril öze yardımıyla yayma işlemi yapılarak bakterilerin ekimi tamamlanmıştır. Ekim sonrasında besiyerleri 37°C’de 24-48 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında besiyerlerde gelişim göstermeyenler negatif, gösterenler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Güren 2024)

Aynı zamanda brothların başlangıç ve inkübasyon sonundaki pH değerleri de ölçülmüştür. Brothlar içerisine pH metre (Hanna, HI 2215, Almanya) elektrodu daldırılıp oda sıcaklığında iki farklı okuma yapılmıştır. İlk ölçüm öncesinde pH metre, pH 4.0, 7.0 ve 10.0 tampon çözeltileri kullanılarak kalibre edilmiştir (Tassou vd. 2002, Şimşek, 2003, Karagöl 2017).

3.2.1.7 Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme

Laktik asit bakterilerinin geliştikleri spesifik katı selektif besiyerleri % 4, % 6, % 8 ve %10 NaCl içerecek oranda hazırlanarak saf su içerisinde çözündürülmüştür. Otoklavda 1 atm basınçta 121°C’de 20 dakika sterilize edildikten sonra 45°C’ye soğutularak petri

kaplarına 12,5 mL dökülmüştür. Petri kaplarının soğumasından sonra farklı tuz konsantrasyonlardaki besiyerlere steril bir öze yardımıyla çizme işlemi yapılarak bakterilerin ekimi gerçekleştirilmiştir. Ekim sonrasında besiyerleri 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyona bırakılan besiyerlerde gelişim gösterenler pozitif, göstermeyenler ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Güren 2024).

3.2.1.8 Farklı Şeker Türlerinde Fermantasyonları

Bu analizde ilk olarak %2 (w/v) şeker içeren (früktoz, sükroz, maltoz, galaktoz, glikoz, mannitol, ksiloz, laktoz, sorbitol) MRS ve M17 Broth besiyerleri hazırlanmıştır. Bu besiyerleri her birinde 9’ar mL broth olacak şekilde tüpler içerisine aktarılmıştır. Ardından brothların içine durham tüpleri açık olan kısmı aşağıya gelecek şekilde konumlandırılmıştır. Broth eklenmiş tüpler, 121°C’de 1 atm basınçta 20 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra, soğuyan besiyerleri bulunan deney tüplerine steril öze kullanılarak bakteriler inoküle edilmiştir daha sonrasında 37°C’de 24-48 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda durham tüplerinde gaz oluşumu, bulanıklık ve pH değerleri ölçülerek değerlendirmeler yapılmıştır (Güren 2024)

Bulanıklık, pH değişimi ve/veya gaz oluşumu görülen laktik asit bakterileri heterofermantatif, gaz oluşturmayan, pH düşüklüğü ve bulanıklık görülmeyen tüpler ise homofermantatif, herhangi bir değişiklik gözlenmeyen tüpler ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Arslan 2017).

Heterofermantatif olan laktik asit bakterilerinin heksozları laktik asitle beraber CO₂’ye ve etanole ya da uygun elektron alıcısı var olduğunda asetik aside fermente edildiği belirtilmektedir. Fakat pentoz şekerleri ele alındığında sadece laktik asitle beraber asetik aside fermente edilebilmektedir. Bu gruba örnek olarak *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus sanfranciscensis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus reuter*, *Lactobacillus fructivorans* bakterileri verilmiştir (Şeremet 2023).

4 BULGULAR

Kefir danelerindeki bakteriler aynı zamanda kefir fermantasyonunu da sağlamaktadır. Bakteri veya maya mikrobiyotasındaki metabolitlerden kaynaklanabilen potansiyel sağlık faydaları nedeniyle tüketicinin kefire yönelik ilgisi vardır. Bu yüzden de kefir danesinin mikrobiyotasının tespit edilmesi, kefir danesinin mikrobiyotanın kefir adına sağlıklı yararlarının bilinmesinin yanı sıra kefirin fermantasyon özelliklerinin anlaşılabilmesi için de oldukça önemlidir. Bu çalışmada da bu iki amaç doğrultusunda çalışmalar yapılmıştır.

3 farklı bölgeden toplanan kefir danelerinden izole edilen bakterilerin farklı sıcaklıkta (4°C, 10°C, 37°C, 45°C) üreme, farklı tuz oranları (%4, %6, %8, %10) içeren besiyerinde üreme ve farklı pH'a ayarlanmış besiyerinde gelişme (pH:4,5- 6,5- 9,8) özellikleri incelenmiştir. Ayrıca bakterilerin 9 farklı şekerdeki (fruktoz, sükroz, maltoz, galaktoz, glikoz, mannitol, ksiloz, laktoz, sorbitol) fermantatif özellikleri incelenmiştir. Gelişim sonuçları farklı sıcaklık ve tuz için besiyerinde gelişim gösterenler pozitif (+), gelişim göstermeyenler negatif (-) olarak değerlendirilmiştir. pH değerlerindeki artış azalış sayısal değerlerle ifade edilmiştir. Şeker fermantasyonunda ise durham tüplerinde gaz oluşturanlar pozitif (+) oluşturmayanlar negatif (-); broth besiyerinde bulanıklık olan tüpler pozitif (+), berrak olanlar negatif (-) olarak değerlendirilmiştir. Gelişim değerleriyle fizyolojik ve biyokimyasal özellikler belirlenerek Afyonkarahisar bölgesi için 4 laktik asit bakterisi, İzmir bölgesi için 23 adet laktik asit bakterisi, Ankara için 50 adet laktik asit bakterisi izole edilmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak da değerlendirilmiş ve benzer çalışmalarla kıyaslanarak elde edilen veriler yorumlanmıştır.

4.1 Gram Boyama, Katalaz ve Üreaz Aktivitesi

İzolasyon sonucundan gelişmeleri tamamlanmış laktik asit bakterilerine gram boyama yapılmıştır. Gram negatif olanlar pembe renkli, gram pozitif olanlar mavi- mor renkte görüntülenmiştir. Gram boyama sonucunda 3 bölge için de izole edilen bakterilerin tamamının mavi – mor renkte gram pozitif olduğu belirlenmiştir.

Kefir danelerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin gram boyama, katalaz aktivitesi ve üreaz aktivitesi yüzdeleri her üç bölge için Şekil 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Afyonkarahisar bölgesinde izole edilen bakterilerin gram boyama, katalaz ve üreaz aktivitesi

LAB Kodu	Kefir Türü	Gram Boyama	Katalaz Akt.	Üreaz Aktiv.
KA1	Kafkas	+	-	-
KA1	Kafkas	+	-	-
KA2	Kafkas	+	-	+
KA2	Kafkas	+	-	-
KI1	Kırgız	+	-	-
KI1	Kırgız	+	-	-
KI2	Kırgız	+	-	-
KI2	Kırgız	+	-	-
KA1	Kafkas	+	-	-
KA1	Kafkas	+	-	-
KA2	Kafkas	+	-	-
KA2	Kafkas	+	-	-
KI1	Kırgız	+	-	-
KI1	Kırgız	+	-	-
KI2	Kırgız	+	-	-
KI2	Kırgız	+	-	-

LAB: Laktik asit bakteri kodu; MRS:De Man, Rogosa and Sharpe

Çizelge 4.2 İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin gram boyama, katalaz ve üreaz aktivitesi

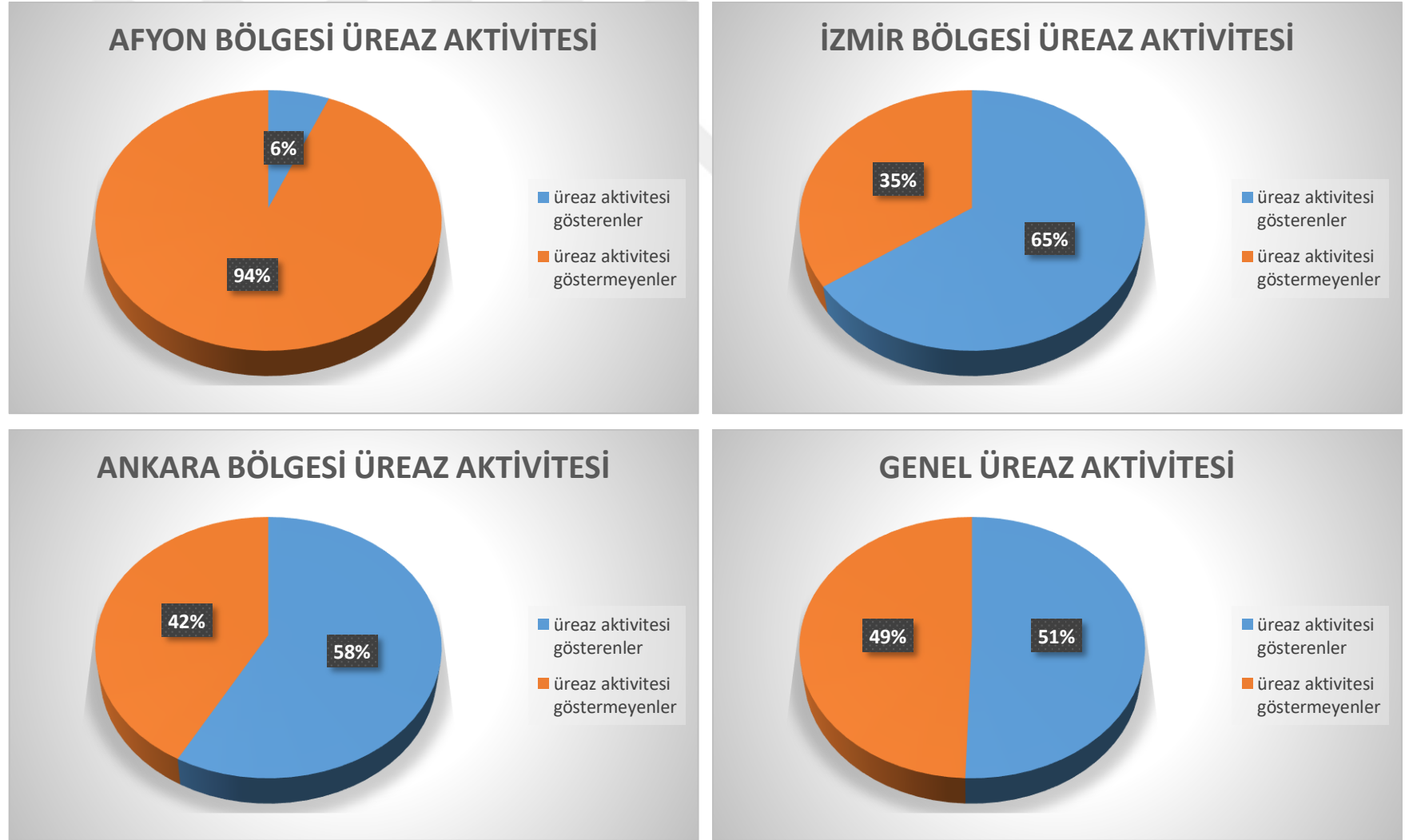
LAB Kodu	Kefir Türü	Gram Boyama	Katalaz	Üreaz
KA1	Kafkas	+	-	+
KA2	Kafkas	+	-	+
KA3	Kafkas	+	-	+
KA4	Kafkas	+	-	+
KA5	Kafkas	+	-	+
KA6	Kafkas	+	-	-
KA7	Kafkas	+	-	+
KA8	Kafkas	+	-	-
KA9	Kafkas	+	-	-
KA10	Kafkas	+	-	+
KA11	Kafkas	+	-	-
KA12	Kafkas	+	-	+
KA13	Kafkas	+	-	-
KA14	Kafkas	+	-	-
KI1	Kırgız	+	-	+
KI2	Kırgız	+	-	+
KI3	Kırgız	+	-	+
KI4	Kırgız	+	-	+
KI5	Kırgız	+	-	+
KI6	Kırgız	+	-	+
KI7	Kırgız	+	-	+
KI8	Kırgız	+	-	-
KI9	Kırgız	+	-	-

LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe

Çizelge 4.3 Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin gram boyama, katalaz ve üreaz aktivitesi

LAB Kodu	Kefir türü	Gram Boyama	Katalaz	Üreaz
KA1	Kafkas	+	-	-
KA2	Kafkas	+	-	-
KA3	Kafkas	+	-	-
KA4	Kafkas	+	-	+
KA5	Kafkas	+	-	-
KA6	Kafkas	+	-	+
KA7	Kafkas	+	-	+
KA8	Kafkas	+	-	+
KA9	Kafkas	+	-	+
KA10	Kafkas	+	-	-
KA11	Kafkas	+	-	-
KA12	Kafkas	+	-	+
KA13	Kafkas	+	-	+
KA14	Kafkas	+	-	+
KA15	Kafkas	+	-	-
KA16	Kafkas	+	-	+
KA17	Kafkas	+	-	-
KA18	Kafkas	+	-	-
KA19	Kafkas	+	-	+
KA20	Kafkas	+	-	+
KA21	Kafkas	+	-	+
KI1	Kırgız	+	-	-
KI2	Kırgız	+	-	-
KI3	Kırgız	+	-	-
KI4	Kırgız	+	-	-
KI5	Kırgız	+	-	+
KI6	Kırgız	+	-	-
KI7	Kırgız	+	-	-
KI8	Kırgız	+	-	+
KI9	Kırgız	+	-	+
KI10	Kırgız	+	-	+
KI11	Kırgız	+	-	+
KI12	Kırgız	+	-	-
KI13	Kırgız	+	-	-
KI14	Kırgız	+	-	+
KI15	Kırgız	+	-	+
KI16	Kırgız	+	-	+
KI17	Kırgız	+	-	+
KI18	Kırgız	+	-	+
KI19	Kırgız	+	-	-
KI20	Kırgız	+	-	+
KI21	Kırgız	+	-	-
KI22	Kırgız	+	-	-
KI23	Kırgız	+	-	-
KI24	Kırgız	+	-	+
KI25	Kırgız	+	-	+
KI26	Kırgız	+	-	+
KI27	Kırgız	+	-	+
KI28	Kırgız	+	-	+
KI29	Kırgız	+	-	+

LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe



Şekil 4.1 Üç bölgeye ve Genel toplama ait üreez aktivitesi

4.2 Farklı Sıcaklıklarda Üreme

Aşağıdaki çizelgelerde Afyonkarahisar, Ankara, İzmir bölgeleri için Kırgız ve Kafkas kefir türlerine ait 4°C, 10°C, 37°C ve 45°C’de gelişim değerleri verilmiştir.

Kefir danalarından izole edilen laktik asit bakterileri için çalışılan 4 sıcaklığa ait gelişme yüzdeleri Afyon bölgesi için Şekil 4.2’de, İzmir bölgesi için Şekil 4.3’te, Ankara bölgesi için de Şekil 4.4’te verilmiştir. 3 bölgede toplam laktik asit bakteri türleri için gelişme yüzdeleri Şekil 4.5’te verilmiştir.

Çizelge 4.4 Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı sıcaklıkta gelişimi

LAB Kodu	Kefir Türü	Besiyeri	4°C	10°C	37°C	45°C
KA1	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA1	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA2	Kafkas	MRS	-	+	-	-
KA2	Kafkas	MRS	-	+	-	-
KI1	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI1	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI2	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI2	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KA1	Kafkas	M17	-	+	-	-
KA1	Kafkas	M17	-	+	-	-
KA2	Kafkas	M17	-	+	-	-
KA2	Kafkas	M17	-	+	-	-
KI1	Kırgız	M17	-	+	+	+
KI1	Kırgız	M17	-	+	+	+
KI2	Kırgız	M17	-	+	+	+
KI2	Kırgız	M17	-	+	+	+

LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe

Çizelge 4.5 İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı sıcaklıkta gelişimi

LAB Kodu	Kefir Türü	Besiyeri	4°C	10°C	37°C	45°C
KA1	Kafkas	MRS	+	+	+	+
KA2	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA3	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA4	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA5	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA6	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA7	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA8	Kafkas	MRS	-	+	+	-

Çizelge 4.5 (Devamı) İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı sıcaklıkta gelişimi

LAB Kodu	Kefir Türü	Besiyeri	4°C	10°C	37°C	45°C
KA9	Kafkas	MRS	-	+	+	+
KA10	Kafkas	M17	-	+	+	-
KA11	Kafkas	M17	-	+	+	+
KA12	Kafkas	M17	-	+	+	-
KA13	Kafkas	M17	-	+	+	+
KA14	Kafkas	M17	-	+	+	+
KI1	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI2	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI3	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI4	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI5	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI6	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI7	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI8	Kırgız	M17	-	+	+	+
KI9	Kırgız	M17	+	-	+	-

LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe

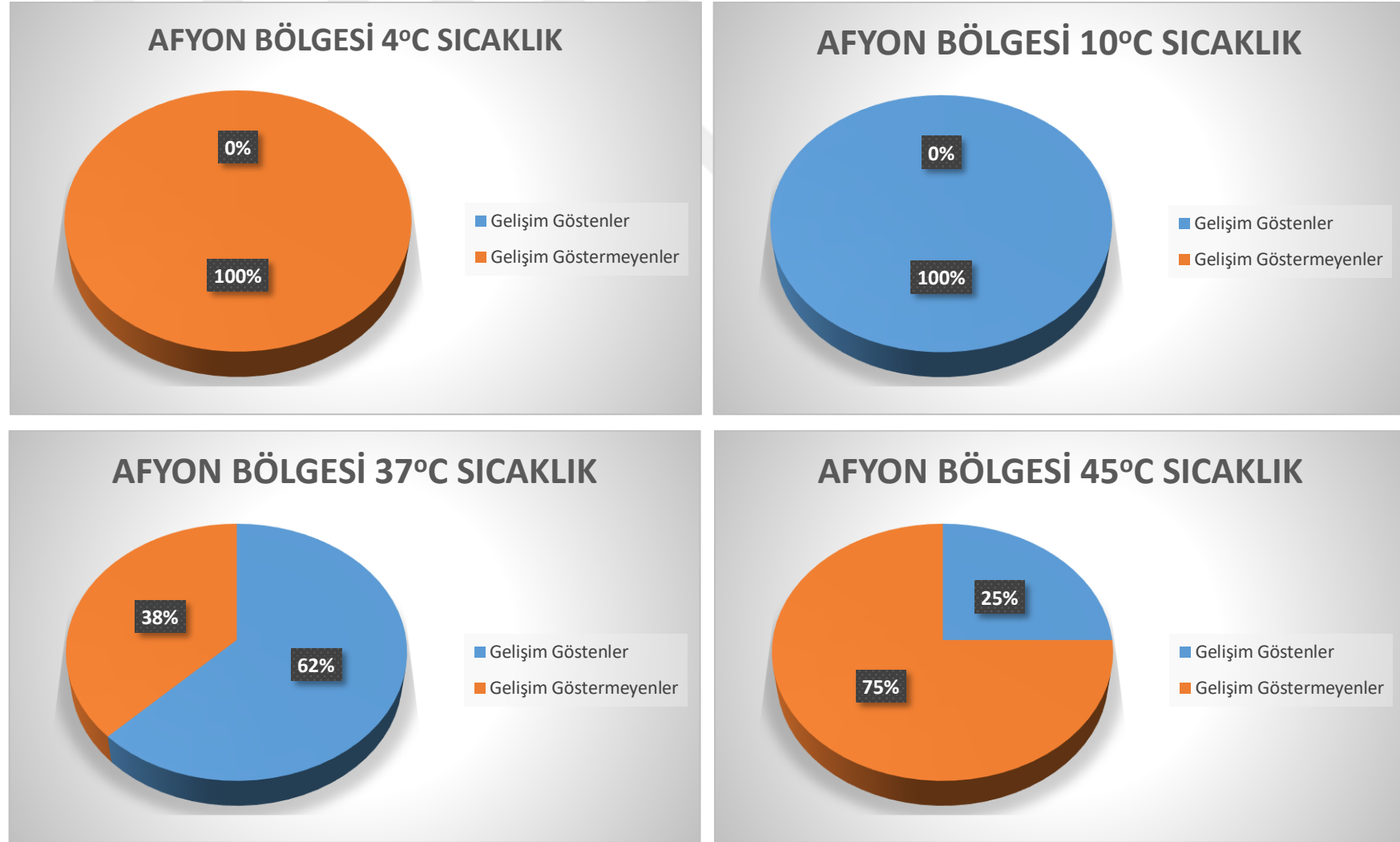
Çizelge 4.6 Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı sıcaklıkta gelişimi

LAB Kodu	Kefir türü	Besiyeri	4°C	10°C	37°C	45°C
KA1	Kafkas	MRS	-	+	+	+
KA2	Kafkas	MRS	-	+	+	+
KA3	Kafkas	MRS	-	+	+	+
KA4	Kafkas	MRS	-	+	+	+
KA5	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA6	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA7	Kafkas	MRS	-	+	+	+
KA8	Kafkas	MRS	-	+	+	+
KA9	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA10	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA11	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA12	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA13	Kafkas	MRS	-	+	+	+
KA14	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA15	Kafkas	MRS	-	+	+	+
KA16	Kafkas	MRS	-	+	+	+
KA17	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA18	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA19	Kafkas	MRS	-	+	+	+
KA20	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KA21	Kafkas	MRS	-	+	+	-
KI1	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI2	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI3	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI4	Kırgız	MRS	-	+	+	+

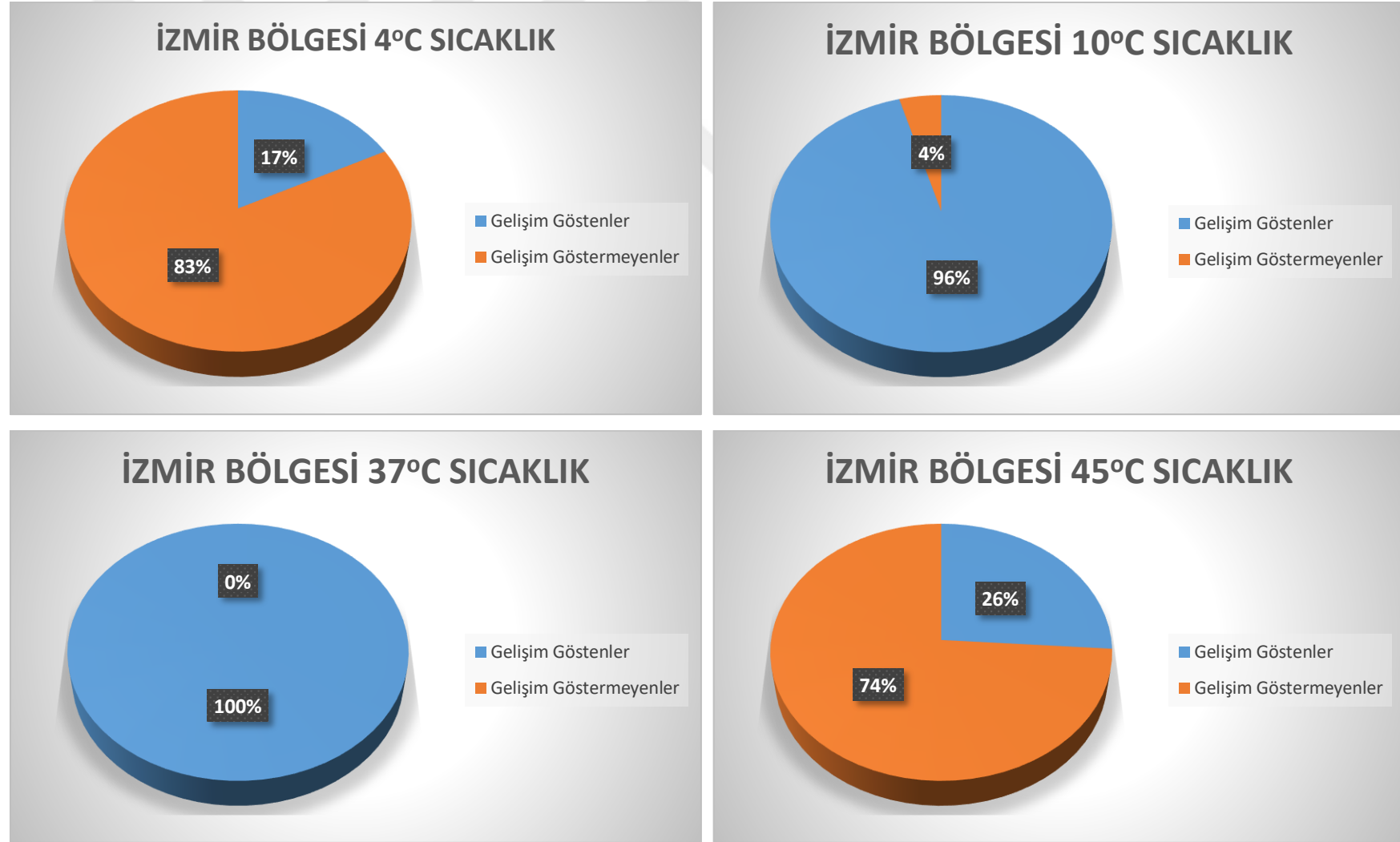
Çizelge 4.6 (Devamı) Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı sıcaklıkta gelişimi

LAB Kodu	Kefir türü	Besiyeri	4°C	10°C	37°C	45°C
KI5	Kırgız	MRS	-	+	+	+
KI6	Kırgız	MRS	-	+	+	+
KI7	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI8	Kırgız	MRS	-	+	+	-
KI9	Kırgız	MRS	+	+	+	-
KI10	Kırgız	MRS	+	+	+	+
KI11	Kırgız	MRS	+	+	+	+
KI12	Kırgız	MRS	+	+	+	+
KI13	Kırgız	MRS	+	+	+	+
KI14	Kırgız	MRS	+	+	+	+
KI15	Kırgız	MRS	+	+	+	-
KI16	Kırgız	MRS	-	+	+	+
KI17	Kırgız	MRS	-	+	+	+
KI18	Kırgız	MRS	-	+	+	+
KI19	Kırgız	MRS	+	+	+	+
KI20	Kırgız	MRS	+	+	+	-
KI21	Kırgız	MRS	-	+	+	+
KI22	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI23	Kırgız	MRS	-	+	+	+
KI24	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI25	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI26	Kırgız	MRS	-	+	-	-
KI27	Kırgız	MRS	-	+	+	+
KI28	Kırgız	MRS	-	+	+	+
KI29	Kırgız	MRS	-	+	+	+

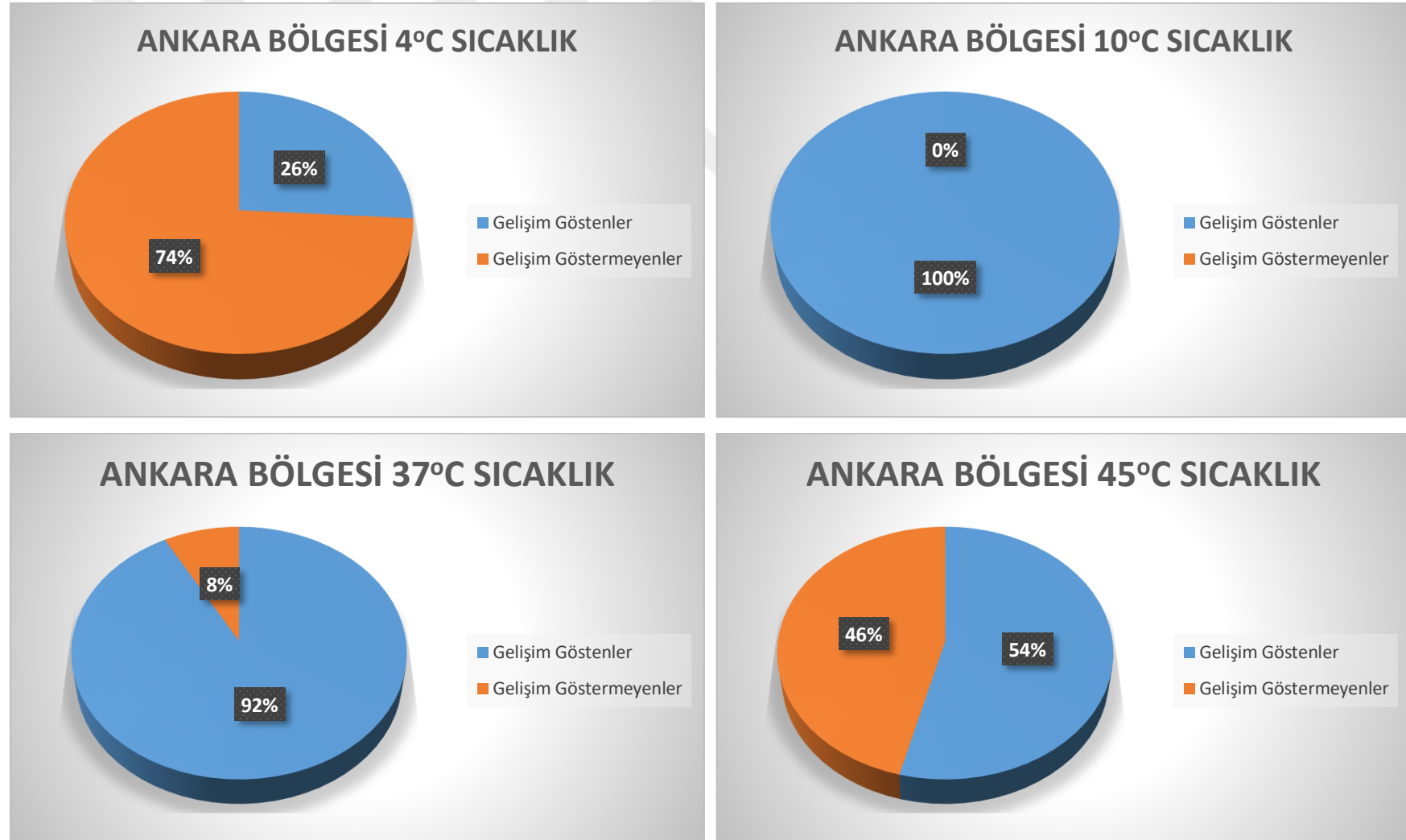
LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe



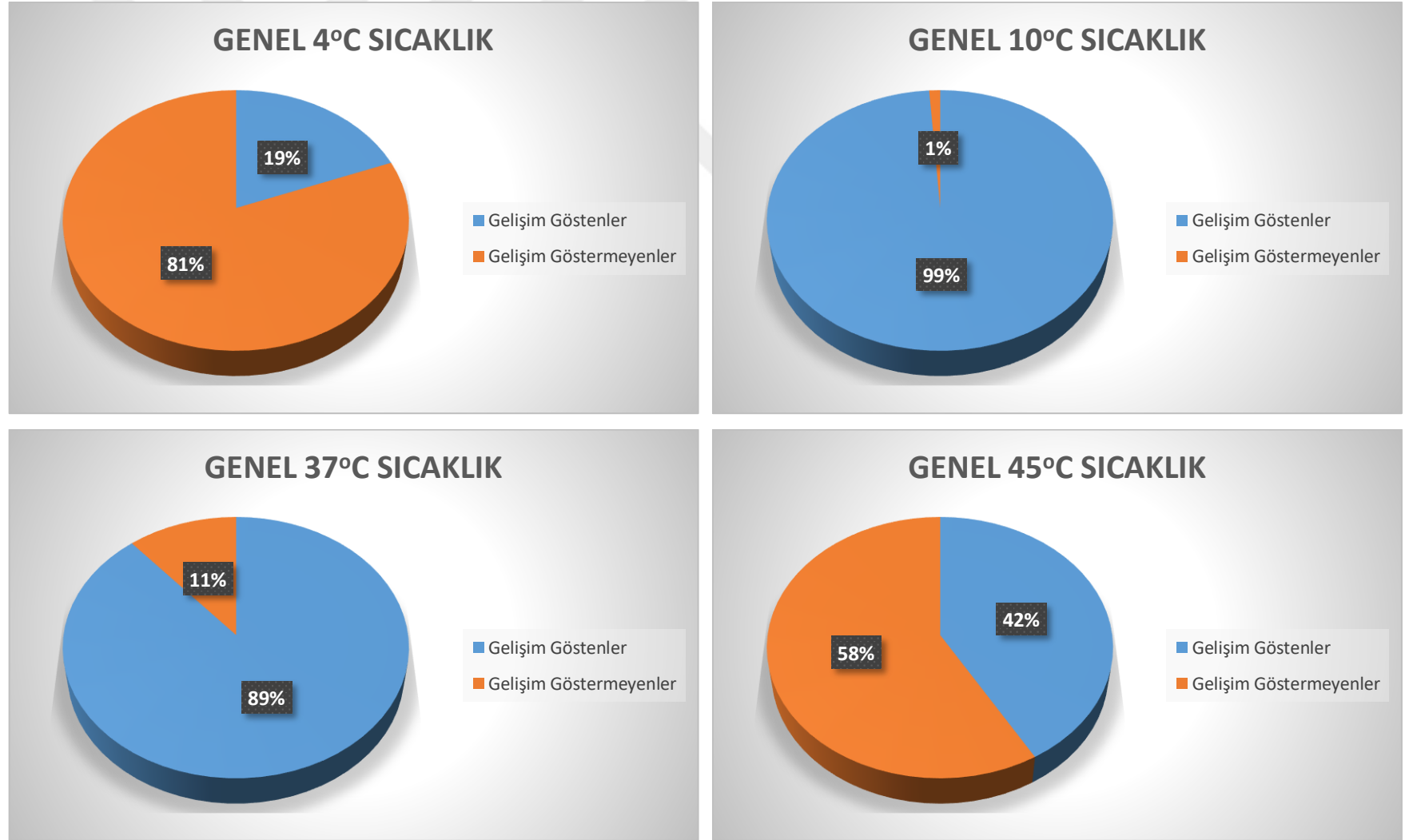
Şekil 4.2 Afyonkarahisar bölgesine ait farklı sıcaklıklarda gelişme yüzdeleri



Şekil 4.3 İzmir bölgesine ait farklı sıcaklıklarda gelişme yüzdeleri



Şekil 4.4 Ankara bölgesine ait farklı sıcaklıklarda gelişme yüzdeleri



Şekil 4.5 Üç bölgeye ait farklı sıcaklıklarda toplam gelişim yüzdeleri

4.3 Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Üreme

Aşağıdaki çizelgelerde Afyonkarahisar, İzmir ve Ankara bölgesi için Kafkas ve Kırgız kefir türlerinde MRS ve M17 besiyerlerinde %4, %6, %8 ve %10 tuz derişimlerinde laktik asit bakterilerinin gelişimi pozitif ve negatif değerler olarak verilmiştir.

Laktik asit bakterilerinin gelişebildikleri tuz konsantrasyonlarının yüzdeleri Afyon bölgesi için Şekil 4.6’da, İzmir bölgesi için Şekil 4.7’de, Ankara bölgesi için 4.8’de verilmiştir. Üç bölge için toplam gelişme yüzdeleri ise Şekil 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.7 Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi

LAB Kodu	Kefir Türü	Besiyeri	%4 Tuz	%6 Tuz	%8 Tuz	%10 Tuz
KA1	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA2	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA2	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KI1	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI1	Kırgız	MRS	+	+	+	-
KI2	Kırgız	MRS	+	+	-	+
KI2	Kırgız	MRS	+	+	+	+
KA1	Kafkas	M17	-	-	-	-
KA1	Kafkas	M17	+	-	-	-
KA2	Kafkas	M17	-	-	-	-
KA2	Kafkas	M17	-	-	-	-
KI1	Kırgız	M17	+	-	-	-
KI1	Kırgız	M17	+	-	-	-
KI2	Kırgız	M17	+	-	-	-
KI2	Kırgız	M17	+	-	-	-

LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe

Çizelge 4.8 İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi

LAB Kodu	Kefir Türü	Besiyeri	%4 Tuz	%6 Tuz	%8 Tuz	%10 Tuz
KA1	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA2	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA3	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA4	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA5	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA6	Kafkas	MRS	+	+	+	+
KA7	Kafkas	MRS	+	+	+	+
KA8	Kafkas	MRS	+	+	+	-

Çizelge 4.8 (Devamı) İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi

LAB Kodu	Kefir Türü	Besiyeri	%4 Tuz	%6 Tuz	%8 Tuz	%10 Tuz
KA9	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA10	Kafkas	M17	+	-	-	-
KA11	Kafkas	M17	-	+	-	-
KA12	Kafkas	M17	+	-	-	+
KA13	Kafkas	M17	-	-	-	-
KA14	Kafkas	M17	+	-	-	+
KI1	Kırgız	MRS	+	+	+	-
KI2	Kırgız	MRS	+	+	+	-
KI3	Kırgız	MRS	+	+	+	-
KI4	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI5	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI6	Kırgız	MRS	+	+	+	-
KI7	Kırgız	MRS	+	+	+	-
KI8	Kırgız	M17	+	-	-	-
KI9	Kırgız	M17	+	+	-	-

LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe

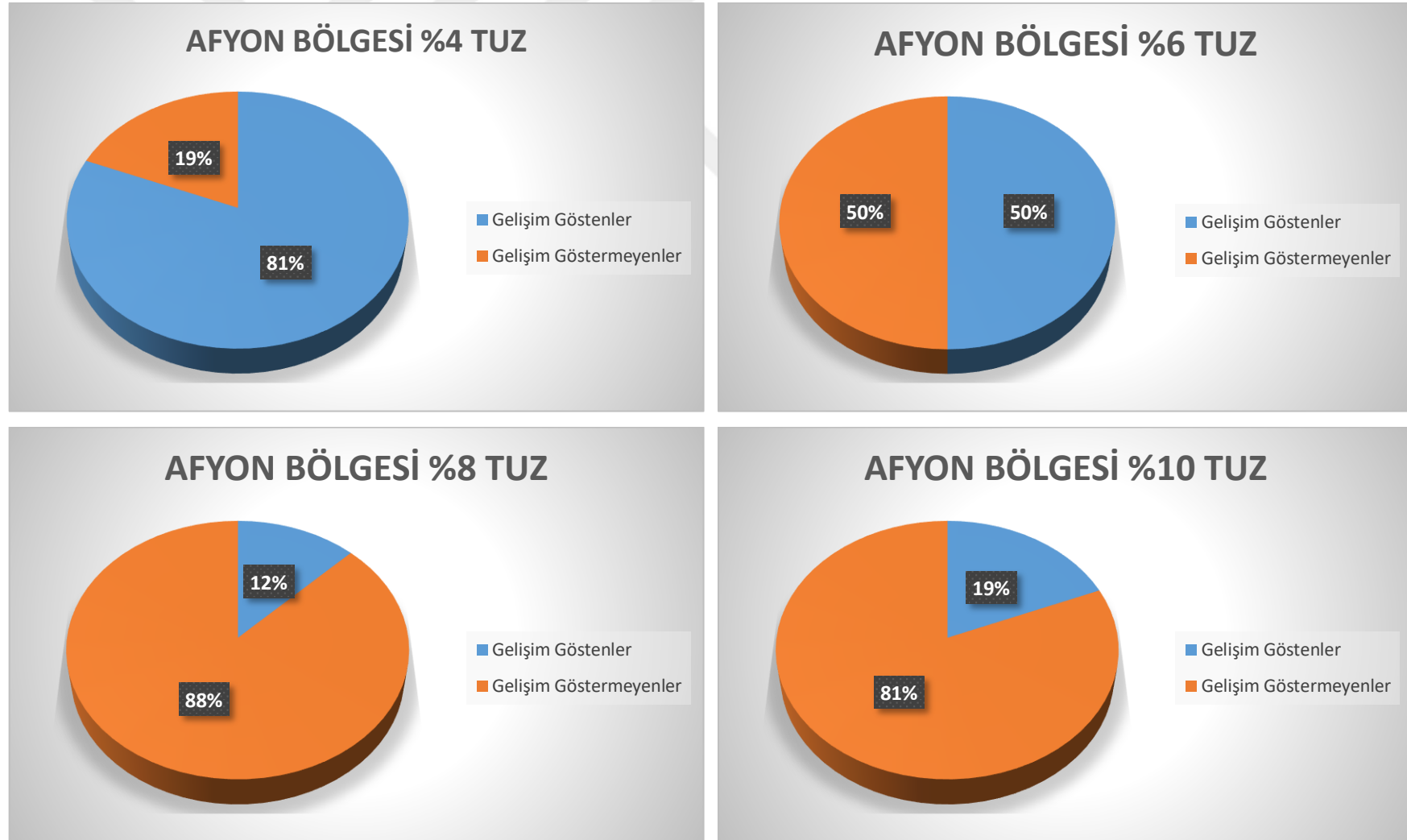
Çizelge 4.9 Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi

LAB Kodu	Kefir türü	Besiyeri	4%	6%	8%	10%
KA1	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA2	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA3	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA4	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA5	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA6	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA7	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA8	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA9	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA10	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA11	Kafkas	MRS	+	+	+	-
KA12	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA13	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA14	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA15	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA16	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA17	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA18	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA19	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA20	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KA21	Kafkas	MRS	+	+	-	-
KI1	Kırgız	MRS	+	-	-	-
KI2	Kırgız	MRS	+	-	-	-
KI3	Kırgız	MRS	-	-	-	-

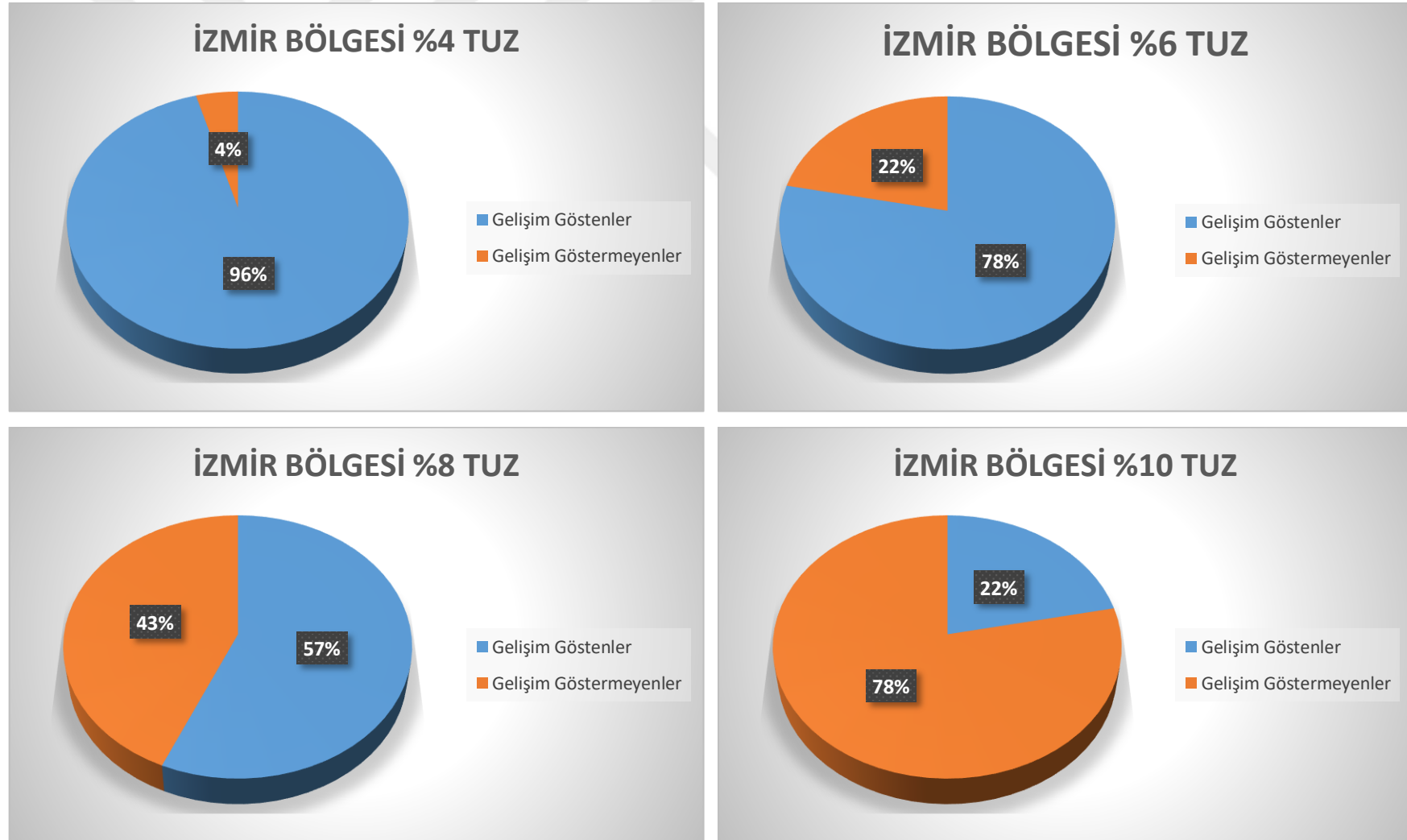
Çizelge 4.9 (Devamı) Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi

LAB Kodu	Kefir türü	Besiyeri	4%	6%	8%	10%
KI4	Kırgız	MRS	-	-	-	-
KI5	Kırgız	MRS	-	-	-	-
KI6	Kırgız	MRS	-	+	-	-
KI7	Kırgız	MRS	+	-	-	-
KI8	Kırgız	MRS	+	-	-	-
KI9	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI10	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI11	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI12	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI13	Kırgız	MRS	+	+	+	+
KI14	Kırgız	MRS	+	+	+	+
KI15	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI16	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI17	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI18	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI19	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI20	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI21	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI22	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI23	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI24	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI25	Kırgız	MRS	+	+	+	+
KI26	Kırgız	MRS	+	+	+	-
KI27	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI28	Kırgız	MRS	+	+	-	-
KI29	Kırgız	MRS	+	+	+	-

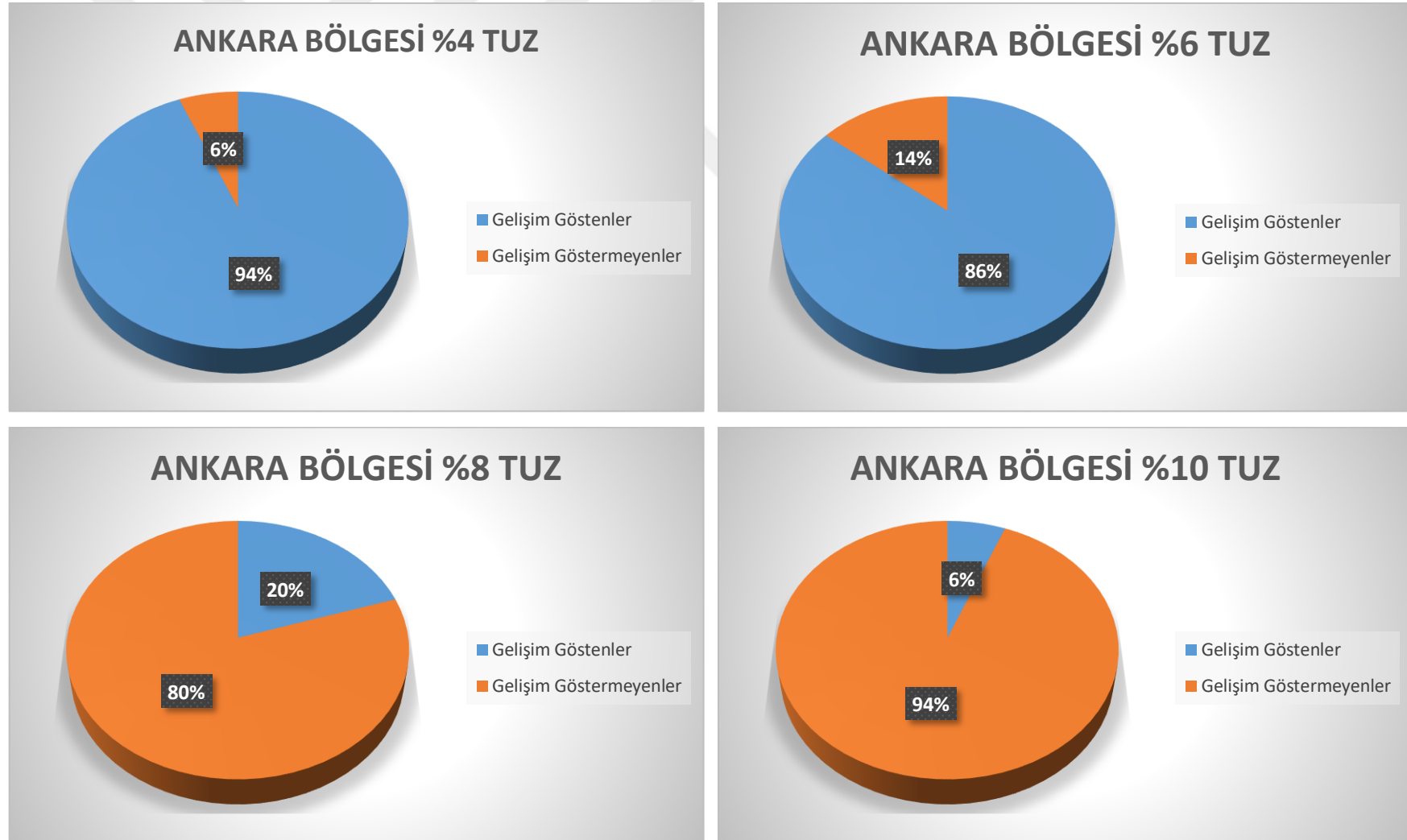
LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe



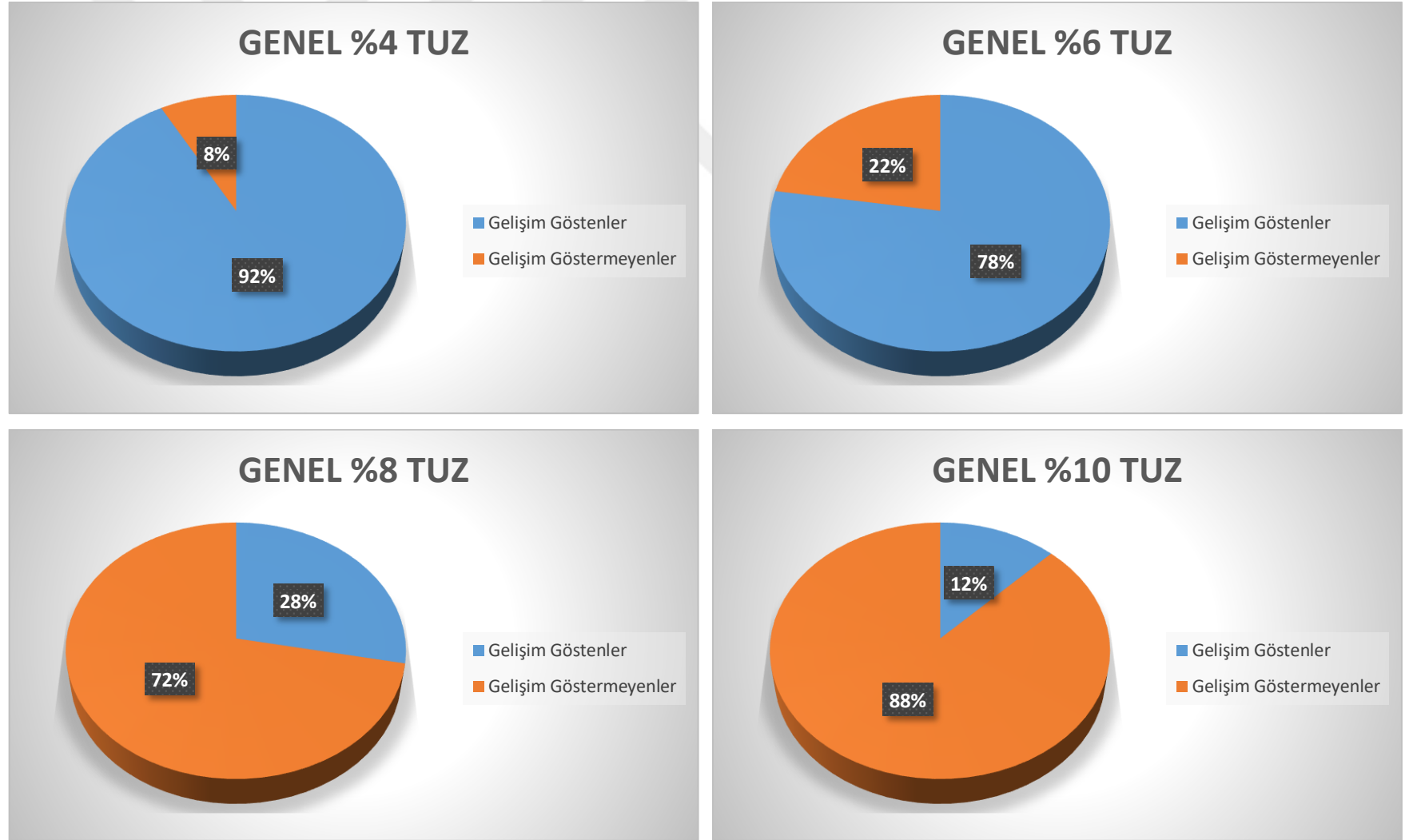
Şekil 4.6 Afyon bölgesine ait farklı tuz konsantrasyonlarında üreme yüzdeleri



Şekil 4.7 İzmir bölgesine ait farklı tuz konsantrasyonlarında üreme yüzdeleri



Şekil 4.8 Ankara bölgesine ait farklı tuz konsantrasyonlarında üreme yüzdeleri



Şekil 4.9 Üç bölgeye ait farklı tuz konsantrasyonlarında toplam gelişme yüzdeleri

4.4 Farklı pH Değerlerinde Üreme

Aşağıdaki çizelgelerde Afyonkarahisar, İzmir ve Ankara bölgesi için Kafkas ve Kırgız kefir türlerinde pH değerleri belirli seviyelerde ayarlanmış olan MRS ve M17 besiyerlerinde laktik asit bakterilerinin gelişimleri gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.10 Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı pH değerlerinde gelişimi

LAB Kodu	Kefir Türü	Besiyeri	pH=4,5	pH=6,5	pH=9,8
KA1	Kafkas	MRS	4,5±0,296 ^{deb}	4,44±0,968 ^{de}	5,08±1,810 ^{jk}
KA1	Kafkas	MRS	4,5±0,254 ^{cdec}	4,39±1,308 ^{efc}	5,52±1,435 ^{ab}
KA2	Kafkas	MRS	4,5±0,247 ^{he}	4,48±0,912 ^{bcb}	5,54±1,738 ^{jk}
KA2	Kafkas	MRS	4,5±0,268 ^{cde}	4,5±0,898 ^{ce}	5,8±1,762 ^{ijk}
KI1	Kırgız	MRS	4,5±0,212 ^{dea}	4,53±1,675 ^{aa}	4,92±1,449 ^{mn}
KI1	Kırgız	MRS	4,5±0,268 ^{fd}	4,55±1,322 ^{gh}	4,94±1,315 ^{op}
KI2	Kırgız	MRS	4,5±0,240 ^{jd}	4,56±0,813 ^{hi}	4,9±1,732 ^{efg}
KI2	Kırgız	MRS	4,5±0,219 ^{ce}	4,58±0,898 ^{ik}	4,9±1,760 ^{de}
KA1	Kafkas	M17	4,92±0,264 ^{cf}	5,81±1,278 ^k	7,65±1,752 ^{mn}
KA1	Kafkas	M17	4,8±0,252 ^{de}	6,76±1,234 ^{bcd}	7,57±1,393 ^{ij}
KA2	Kafkas	M17	4,86±0,249 ^{ab}	6,33±1,756 ^g	7,57±1,696 ^{ef}
KA2	Kafkas	M17	4,88±0,269 ^{cd}	6,37±1,342 ^{cdefg}	7,66±1,623 ^{gh}
KI1	Kırgız	M17	4,85±0,246 ^{cd}	5,82±0,918 ^m	7,37±1,718 ^k
KI1	Kırgız	M17	4,84±0,271 ^{cdeb}	5,7±0,621 ^{ghi}	7,39±1,576 ^{hi}
KI2	Kırgız	M17	4,88±0,235 ^{cdeb}	5,83±0,523 ^{def}	7,4±1,798 ^{cde}
KI2	Kırgız	M17	4,86±0,241 ^{Bf}	5,83±0,976 ^{fgh}	7,39±1,745 ^{ab}

LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe. a-d(→): Aynı satırda farklı küçük harflere sahip değerler istatistiksel olarak önemli ölçüde farklılık gösterir(P<0,05)

Çizelge 4.11 Afyonkarahisar bölgesi Kırgız kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri

İnteraksiyon	P value	r
Bakteri	<0,0001	-0,104
pH	<0,0001	0,638**
Bakteri x pH	<0,0001	--

r: korelasyon katsayısı, p < 0.0001: İstatistiksel olarak çok fazla anlamlı, p < 0.01: İstatistiksel olarak fazla anlamlı, p < .05: İstatistiksel olarak anlamlı, p >0.05: İstatistiksel olarak anlamlı değil, ns: İstatistiksel olarak anlamlı değil, *: p < 0.05 ; **: p <0.01

Çizelge 4.12 Afyonkarahisar bölgesi Kafkas kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri

İnteraksiyon	P value	r
Bakteri	<0.0001	-0,04
pH	<0.001	0.619**
Bakteri x pH	<0.0001	--

r: korelasyon katsayısı, p < 0.0001: İstatistiksel olarak çok fazla anlamlı, p < 0.01: İstatistiksel olarak fazla anlamlı, p < .05: İstatistiksel olarak anlamlı, p >0.05: İstatistiksel olarak anlamlı değil, ns: İstatistiksel olarak anlamlı değil, *: p < 0.05 ; **: p <0.01

Çizelge 4.13 İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı pH değerlerinde gelişimi

LAB Kodu	Kefir Türü	Besiyeri	pH:4,5	pH:6,5	pH:9,8
KA1	Kafkas	MRS	4,89 ± 0 ^{no}	4,74± 0,007 ^{mn}	5,18± 0,028 ^{abcd}
KA2	Kafkas	MRS	4,89 ±0,007 ^{op}	4,75± 0,021 ^{hi}	5,14± 0,007 ^{def}
KA3	Kafkas	MRS	4,9± 0 ^l	4,76± 0 ^{efg}	5,24± 0,007 ^{abcde}
KA4	Kafkas	MRS	4,91± 0 ^{de}	4,73± 0,07 ^p	5,14± 0,770 ^{efg}
KA5	Kafkas	MRS	4,92± 0,02 ^{mn}	4,75± 0,608 ^{mn}	5,25±0,841 ^{ab}
KA6	Kafkas	MRS	4,92±0,014 ^{ij}	4,75±0,028 ^{ij}	5,24±0,233 ^k
KA7	Kafkas	MRS	4,92±0,042 ^k	4,72±0,197 ^{cd}	5,1±0,049 ^{jk}
KA8	Kafkas	MRS	4,92±0,014 ^{ef}	4,82±0,155 ^k	6,2±0,714 ^{ijk}
KA9	Kafkas	MRS	4,93±0,007 ^{cd}	4,72±0,07 ^{cde}	6,11±0,007 ^l
KA10	Kafkas	M17	4,97±0,028 ^{hi}	5,58±0,608 ^{de}	7,3±0,063 ^{hi}
KA11	Kafkas	M17	4,98±0,014 ^{cde}	5,74±0,021 ^{efgh}	7,62±0,049 ^{efgh}
KA12	Kafkas	M17	4,96±0,007 ^{ab}	5,78±0,608 ^{efgh}	7,29±0,233 ^{efg}
KA13	Kafkas	M17	4,98±0,014 ⁱ	5,97±0,007 ^{no}	7,47±0,007 ^{de}
KA14	Kafkas	M17	5,04±0,007 ^{cde}	5,69±0,028 ^{ghi}	7,4±0,028 ^{no}
KI1	Kırgız	MRS	4,93±0,014 ^{ab}	4,66±0 ^a	5,23±0,063 ^k
KI3	Kırgız	MRS	4,95±0 ^{de}	4,81±0,007 ^{ab}	5,14±0,007 ^{ij}
KI4	Kırgız	MRS	4,93±0,007 ^b	4,68±0,035 ^{ijk}	5,15±0,035 ^{cd}
KI5	Kırgız	MRS	4,93±0,120 ^{cde}	4,94±0,799 ^{mn}	5,5±0,077 ^k
KI6	Kırgız	MRS	4,93±0,063 ^{de}	4,93±0,784 ⁱ	5,49±0,989 ^{cde}
KI7	Kırgız	MRS	5,06±0,091 ⁱ	6,04±0,233 ^{hi}	7,22±0,643 ^{ab}
KI8	Kırgız	M17	5,05±0,014 ^{de}	6,05±0,155 ^{ef}	7,17±0,714 ^m
KI9	Kırgız	M17	4,97±0,098 ^g	6,01±1,265 ^{de}	6,19±0,848 ^b

LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe. a-d(→): Aynı satırda farklı küçük harflere sahip değerler istatistiksel olarak önemli ölçüde farklılık gösterir(P<0,05)

Çizelge 4.14 İzmir bölgesi Kafkas kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri

İnteraksiyon	P value	r
Bakteri	<0.0001	0.541**
pH	<0.0001	0.577**
Bakteri x pH	<0.0001	--

r: korelasyon katsayısı, p < 0.0001: İstatistiksel olarak çok fazla anlamlı, p < 0.01: İstatistiksel olarak fazla anlamlı, p < .05: İstatistiksel olarak anlamlı, p >0.05: İstatistiksel olarak anlamlı değil, ns: İstatistiksel olarak anlamlı değil, *: p < 0.05 ; **: p <0.01

Çizelge 4.15 İzmir bölgesi Kafkas kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri

İnteraksiyon	P value	r
Bakteri	<0.0001	0.380**
pH	<0.0001	0.578**
Bakteri * pH	<0.0001	--

r: korelasyon katsayısı, p < 0.0001: İstatistiksel olarak çok fazla anlamlı, p < 0.01: İstatistiksel olarak fazla anlamlı, p < .05: İstatistiksel olarak anlamlı, p >0.05: İstatistiksel olarak anlamlı değil, ns: İstatistiksel olarak anlamlı değil, *: p < 0.05 ; **: p <0.01

Çizelge 4.16 Ankara bölgesinden izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı pH değerlerinde gelişme

Laktik Asit B.	Kefir türü	Besiyeri	pH:4,5	pH:6,5	pH:9,8
KA1	Kafkas	MRS	4,54±0,014 ^{dd}	6,13±0,007 ^g	5,51±0,00 ^{hi}
KA2	Kafkas	MRS	4,57±0,014 ^{efgc}	6,35±0,07 ^{bcd}	5,43±0,014 ^{fgh}
KA3	Kafkas	MRS	4,58±0,007 ^{eb}	6,3±0,007 ^h	5,45±0,007 ^{bbc}
KA4	Kafkas	MRS	4,55±0,014 ^{db}	6,39±0,007 ^{bcd}	5,47±0,007 ^{bca}
KA5	Kafkas	MRS	4,49±0,007 ^{ba}	6,34±0,007 ^{cdefg}	5,26±0,007 ^d
KA6	Kafkas	MRS	4,64±0,014 ^{Aa}	6,33±0,014 ^g	5,41±0,014 ^{efg}
KA7	Kafkas	MRS	4,64±0,007 ^{lf}	6,34±0,007 ^g	5,44±0,014 ^l
KA8	Kafkas	MRS	4,63±0,014 ^{aa}	6,34±0,007 ^{bc}	5,55±0,014 ^{lm}
KA9	Kafkas	MRS	4,64±0,014 ^{bca}	6,32±0,007 ^{bcde}	5,59±0,282 ^a
KA10	Kafkas	MRS	4,62±0,007 ^{def}	6,3±0,007 ^{bcdef}	5,5±0,007 ^{ij}
KA11	Kafkas	MRS	4,64±0,007 ^{cdef}	6,31±0,007 ^{fg}	5,55±0,00 ^e
KA12	Kafkas	MRS	4,65±0,007 ^{def}	6,15±0,007 ^{defg}	5,51±0,007 ^c
KA13	Kafkas	MRS	4,66±0,007 ^{fghi}	6,3±0,007 ^g	5,72±0,014 ⁱ
KA14	Kafkas	MRS	4,65±0,007 ^k	6,3±0,007 ^{bc}	5,66±0,014 ^a
KA15	Kafkas	MRS	4,61±0,014 ^{def}	6,29±0,007 ^{abc}	5,67±0,014 ^{hi}
KA16	Kafkas	MRS	4,62±0,007 ^{efg}	6,3±0,007 ^{abc}	5,61±0,014 ^f
KA17	Kafkas	MRS	4,66±0,007 ^{ab}	6,27±0,007 ^{def}	5,59±0,007 ^f
KA18	Kafkas	MRS	4,64±0,007 ^{abcd}	6,09±0,014 ^{bcde}	5,6±0,014 ^{ab}
KA19	Kafkas	MRS	4,62±0,014 ^{abcd}	6,01±0,007 ^{fgh}	5,85±0,007 ^j
KA20	Kafkas	MRS	4,64±0,007 ^k	6,27±0,007 ^{def}	5,66±0,000 ^{bcd}
KA21	Kafkas	MRS	4,68±0,007 ^{fghi}	6,29±0,134 ^{ab}	5,87±0,007 ^h
KI1	Kırgız	MRS	4,31±0,014 ^{efg}	6,18±0,007 ^{bcde}	5,6±0,007 ^{bcd}
KI2	Kırgız	MRS	4,34±0,014 ^{def}	5,9±0,007 ^{def}	5,51±0,014 ^{defg}
KI3	Kırgız	MRS	4,36±0,014 ^{efg}	6,25±0,007 ^k	5,61±0,014 ^{bc}
KI4	Kırgız	MRS	4,38±0,007 ^{abcd}	6,2±0,007 ^{ijk}	5,62±0,014 ^{hi}
KI5	Kırgız	MRS	4,41±0,007 ^{fghi}	6,26±0,014 ^{fgh}	5,44±0,007 ^{jk}
KI6	Kırgız	MRS	4,37±0,014 ^k	5,93±0,007 ^{abcde}	5,47±0,014 ^k
KI7	Kırgız	MRS	4,29±0,014 ^{bcd}	5,94±0,007 ^{mn}	5,63±0,014 ^f
KI8	Kırgız	MRS	4,31±0,007 ^{hij}	5,59±0,014 ^k	5,58±0,007 ^{ghi}
KI9	Kırgız	MRS	4,43±0,007 ^{efg}	6,18±0,014 ^{hi}	5,56±0,007 ^{efg}

Çizelge 4.16 (Devamı) Ankara bölgesinden izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı pH değerlerinde gelişme

Laktik Asit B.	Kefir türü	Besiyeri	pH:4,5	pH:6,5	pH:9,8
KI10	Kırgız	MRS	4,46±0,014 ^{cdef}	5,8±0,007 ^k	5,7±0,014 ^{fgh}
KI11	Kırgız	MRS	4,47±0,014 ^{efg}	6,23±0,007 ^{jk}	5,96±0,014 ^{abcd}
KI12	Kırgız	MRS	4,47±0,007 ^{abcde}	6,21±0,007 ^b	5,81±0,014 ^{jk}
KI13	Kırgız	MRS	4,46±0,014 ^{def}	5,4±0,014 ^{bcd}	5,23±0,007 ^{ijk}
KI14	Kırgız	MRS	4,43±0,014 ^{ab}	6,01±0,007 ^b	5,66±0,007 ^{abcde}
KI15	Kırgız	MRS	4,45±0,014 ^{abcd}	6,29±0,007 ^{bcd}	5,33±0,014 ^{efgh}
KI16	Kırgız	MRS	4,44±0,007 ^{def}	5,74±0,014 ^{efg}	5,49±0,007 ^{mn}
KI17	Kırgız	MRS	4,43±0,014 ^{abcd}	6,36±0,007 ^{bcd}	5,47±0,014 ^{hi}
KI18	Kırgız	MRS	4,41±0,007 ^{efg}	5,44±0,014 ^{cdefg}	5,53±0,007 ^{op}
KI19	Kırgız	MRS	4,43±0,007 ^{def}	6,14±0,014 ^g	5,56±0,007 ^d
KI20	Kırgız	MRS	4,43±0,007 ^{abcd}	6,25±0,007 ^{defg}	5,52±0,007 ^{efgh}
KI21	Kırgız	MRS	4,45±0,007 ^{fghi}	6,26±0,007 ^{bc}	5,6±0,014 ^{efg}
KI22	Kırgız	MRS	4,41±0,007 ^a	6,19±0,014 ^{cdef}	5,83±0,007 ^{de}
KI23	Kırgız	MRS	4,51±0,007 ^{abcd}	6,14±0,014 ^{abc}	5,68±0,014 ^p
KI24	Kırgız	MRS	4,47±0,007 ^k	6,24±0,014 ^{abc}	5,76±0,007 ^{no}
KI25	Kırgız	MRS	4,56±0,014 ^{fghi}	6,2±0,014 ^{def}	6,12±0,014 ^{lm}
KI26	Kırgız	MRS	4,47±0,014 ^{ab}	6,25±0,014 ^{abc}	5,92±0,007 ^{mn}
KI27	Kırgız	MRS	4,51±0,014 ^{hij}	6,12±0,014 ^{hij}	5,34±0,007 ^k
KI28	Kırgız	MRS	4,47±0,014 ^{bcdef}	6,15±0,007 ^m	5,37±0,007 ^{ij}
KI29	Kırgız	MRS	4,51±0,014 ^d	6,16±0,007 ^{ghi}	5,32±0,014 ^a

LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS;De Man, Rogosa and Sharpe. a-d(→): Aynı satırda farklı küçük harflere sahip değerler istatistiksel olarak önemli ölçüde farklılık gösterir(P<0,05)

Çizelge 4.17 Ankara bölgesi Kafkas kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri

İnteraksiyon	P value	r
Bakteri	<0.0001	0.057
pH	<0.0001	0.476**
Bakteri x pH	<0.0001	--

r: korelasyon katsayısı, p < 0.0001: İstatistiksel olarak çok fazla anlamlı, p < 0.01: İstatistiksel olarak fazla anlamlı, p < .05: İstatistiksel olarak anlamlı, p >0.05: İstatistiksel olarak anlamlı değil, ns: İstatistiksel olarak anlamlı değil, *: p < 0.05 ; **: p <0.01

Çizelge 4.18 Ankara bölgesi Kırgız kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri

İnteraksiyon	P value	r
Bakteri	<0.0001	0.061
pH	<0.0001	0.601**
Bakteri x pH	<0.0001	--

r: korelasyon katsayısı, p < 0.0001: İstatistiksel olarak çok fazla anlamlı, p <0.01: İstatistiksel olarak fazla anlamlı, p < .05: İstatistiksel olarak anlamlı, p >0.05: İstatistiksel olarak anlamlı değil, ns: İstatistiksel olarak anlamlı değil, *: p < 0.05 ; **: p <0.01

4.5 Farklı Şeker Türlerinde Üreme

3 bölge için şeker fermentasyonu analizi 9 farklı şeker içeren MRS ve M17 broth besiyerlerinde yapılmıştır. Laktik asit bakterisi inoküle edilmeden önce şeker çözeltilerinin pH değerleri Çizelge 4.10'da, inkübasyon sonunda pH değerleri Afyonkarahisar bölgesi Çizelge 4.11'de, İzmir bölgesi için Çizelge 4.12'de, Ankara bölgesi için Çizelge 4.13'de verilmiştir.

Çizelge 4.19 Şeker Konsantrasyonunun pH Değerleri (inkübasyon öncesi)

	pH değerleri	
	M17 BROTH	MRS BROTH
FRUKTOZ	6,56	6,06
SÜKROZ	7,95	6,08
MALTOZ	6,96	5,97
GALAKTOZ	6,64	5,78
GLİKOZ	6,85	5,85
MANNİTOL	7,93	6,01
KSİLOZ	6,11	5,46
LAKTOZ	6,99	5,96
SORBITOL	7,9	6,09

Çizelge 4.20 Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker konsantrasyonlarında pH değişimi (inkübasyon sonrası)

LAB Kodu	Besiyeri	Fruktoz	Sükroz	Maltoz	Galaktoz	Glikoz	Mannitol	Ksiloz	Laktoz	Sorbitol
KA1	MRS	4,91	4,82	4,92	5,17	4,91	4,82	5,39	4,89	4,72
KA1	MRS	5,31	6,05	5,26	5,73	5,71	5,32	5,39	4,87	4,86
KA2	MRS	4,54	4,65	4,66	4,7	4,75	4,78	5,34	4,53	4,52
KA2	MRS	4,77	4,52	4,56	4,76	4,7	4,67	4,92	4,7	4,61
KI1	MRS	5,72	4,58	4,7	4,82	4,65	4,67	5,19	4,69	4,62
KI1	MRS	4,84	4,62	4,65	4,81	4,71	4,65	5,32	4,8	4,57
KI2	MRS	5,11	4,79	4,59	4,81	4,6	4,51	4,98	5,01	4,45

Çizelge 4.20 (Devamı) Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker konsantrasyonlarında pH değişimi (inkübasyon sonrası)

LAB Kodu	Besiyeri	Fruktoz	Sükroz	Maltoz	Galaktoz	Glikoz	Mannitol	Ksiloz	Laktoz	Sorbitol
KI2	MRS	4,99	4,97	4,9	5,2	5,21	5,12	5,45	4,56	4,89
KA1	M17	6,82	6,3	6,58	6,6	6,30	6,57	6,30	6,71	6,74
KA1	M17	6,58	6,33	6,57	6,63	6,47	6,65	6,20	6,65	6,66
KA2	M17	5,39	5,12	5,01	5,01	4,94	6,02	5,87	5,25	6,38
KA2	M17	6,62	5,96	6,35	5,7	5,5	6,21	6,02	5,92	6,43
KI1	M17	6,38	6,22	5,89	6,22	5,99	6,45	6,12	5,82	6,58
KI1	M17	5,22	4,91	4,97	5,1	4,89	5,39	5,73	5,03	5,99
KI2	M17	6,06	5,71	5,59	5,37	5,21	6,01	5,82	5,95	6,8
KI2	M17	6,26	5,92	6,16	6,11	6,11	6,42	6,41	5,79	6,21

LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe

Çizelge 4.21 İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker konsantrasyonlarında pH değişimi (inkübasyon sonrası)

LAB Kodu	Besiyeri	Fruktoz	Sükroz	Maltoz	Galaktoz	Glikoz	Mannitol	Ksiloz	Laktoz	Sorbitol
KA1	MRS	4,71	4,8	4,72	4,86	4,69	4,84	4,67	4,93	4,84
KA2	MRS	4,84	5,28	4,72	5,23	4,75	5,05	4,86	5,04	4,98
KA3	MRS	4,83	4,87	4,84	4,96	4,72	4,95	5,08	4,92	4,91
KA4	MRS	4,78	4,91	4,8	4,81	4,83	4,89	4,96	4,77	4,83
KA5	MRS	4,78	4,8	4,74	4,87	4,82	4,84	5,35	4,88	4,83
KA6	MRS	4,91	4,87	4,78	4,93	4,87	4,91	5,17	4,89	4,9
KA7	MRS	4,81	4,8	4,73	4,91	4,87	4,88	5,08	4,91	4,83
KA8	MRS	5,31	5,61	5,36	6,71	5,17	5,37	6,4	6,87	6,88
KA9	MRS	5,17	4,98	5,16	4,96	5,41	5,08	6,35	5,24	5,09
KA10	M17	5,23	5,59	5,73	5,82	5,77	5,8	5,53	5,85	6,76
KA11	M17	5,59	5,43	5,57	5,82	5,65	6,27	6,26	5,98	6,7
KA12	M17	5,61	5,02	5,67	5,28	5,12	5,84	6,01	5,24	6,61
KA13	M17	5,13	6,85	5,31	7,42	7,59	7,91	5,97	7,68	7,00
KA14	M17	5,77	5,56	5,65	5,5	5,6	5,47	5,55	5,96	6,46
KI1	MRS	4,68	4,78	4,74	4,7	4,71	4,75	4,89	4,8	4,79
KI2	MRS	6,68	4,7	6,9	4,67	6,63	4,8	6,47	4,81	6,89
KI3	MRS	6,7	4,88	6,89	4,74	5,59	4,75	6,47	4,92	6,51
KI4	MRS	6,7	4,84	6,9	4,72	6,73	4,73	6,46	4,82	6,95
KI5	MRS	6,7	5,07	6,89	5,25	5,84	5,05	6,46	5,01	5,64
KI6	MRS	6,7	5,02	6,83	4,99	5,51	4,91	6,46	5,3	6,97
KI7	MRS	7,25	6,77	7,72	7,4	7,57	6,8	6,31	5,56	8,04
KI8	M17	5,95	7,98	7,75	5,66	7,64	6,76	5,88	5,48	8,16
KI9	M17	5,93	5,36	5,72	5,41	5,74	5,45	5,81	5,45	6,11

LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe

Çizelge 4.22 Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker konsantrasyonlarında pH değişimi (inkübasyon sonrası)

LAB Kodu	Besiyeri	Fruktoz	Sükroz	Maltoz	Galaktoz	Glikoz	Mannitol	Ksiloz	Laktoz	Sorbitol
KA1	MRS	6,27	6,25	6,25	6,07	6,08	6,44	6,35	6,09	6,37
KA2	MRS	6,51	6,33	6,09	6,09	6,20	6,43	6,29	5,93	6,36
KA3	MRS	6,44	6,35	4,88	6,13	6,18	5,05	6,27	5,77	6,45
KA4	MRS	6,53	6,34	6,31	6,11	6,11	6,30	6,30	5,98	6,24
KA5	MRS	6,25	6,35	6,23	6,07	6,25	6,51	6,31	5,80	6,29
KA6	MRS	6,56	6,42	6,23	6,08	6,09	6,48	6,27	5,86	6,39
KA7	MRS	6,44	6,50	6,26	6,14	6,13	6,46	6,30	5,51	6,40
KA8	MRS	6,41	6,55	5,97	6,23	6,15	6,56	6,34	5,45	6,29
KA9	MRS	6,48	6,58	6,15	6,27	6,19	6,55	6,33	5,53	6,45
KA10	MRS	6,61	6,51	6,23	6,31	6,27	6,45	6,36	5,86	6,43
KA11	MRS	6,48	6,52	6,41	6,35	6,27	6,44	6,31	5,94	6,37
KA12	MRS	6,47	6,54	6,03	6,38	6,30	6,52	6,28	6,10	5,51
KA13	MRS	6,60	6,51	6,00	6,36	6,35	6,50	6,27	5,84	6,20
KA14	MRS	6,30	6,41	6,07	6,34	6,15	6,32	6,27	6,01	6,47
KA15	MRS	6,41	6,47	6,19	6,30	6,32	6,46	6,33	5,87	5,20
KA16	MRS	6,50	6,52	5,97	6,25	6,29	6,29	6,33	6,14	6,44
KA17	MRS	6,46	6,49	5,98	6,26	6,15	6,44	6,30	5,71	6,50
KA18	MRS	6,21	6,47	6,11	6,22	6,28	6,52	6,34	6,11	6,38
KA19	MRS	6,38	6,45	6,00	6,23	6,27	6,37	6,28	6,10	6,48
KA20	MRS	6,53	6,51	5,98	6,23	6,21	6,50	6,32	5,93	6,54
KA21	MRS	6,42	6,48	5,99	6,24	6,22	6,56	6,27	5,87	6,47
KI1	MRS	6,25	6,37	6,21	5,98	6,21	6,39	6,25	6,14	6,45
KI2	MRS	6,35	6,36	6,17	6,04	6,24	6,33	6,38	6,09	6,43
KI3	MRS	6,32	6,30	6,23	6,07	6,26	6,34	6,20	6,13	6,44
KI4	MRS	6,14	6,19	6,14	6,06	6,17	6,33	6,20	6,21	6,33
KI5	MRS	6,26	6,33	5,93	6,04	6,26	6,06	6,36	6,12	6,33
KI6	MRS	6,28	6,36	6,12	6,03	6,03	6,28	6,43	6,17	6,40
KI7	MRS	6,15	6,41	6,23	6,04	6,29	6,40	6,32	6,19	6,38
KI8	MRS	6,39	6,39	6,30	6,05	6,26	6,40	6,26	6,23	6,39
KI9	MRS	6,27	6,33	6,05	6,02	6,36	6,45	6,23	6,05	6,40
KI10	MRS	6,25	6,38	6,14	6,07	6,43	6,50	6,32	6,08	6,35
KI11	MRS	6,40	6,44	5,95	6,17	6,33	6,36	6,27	6,04	6,40
KI12	MRS	6,37	6,29	6,16	6,12	4,93	6,35	6,23	6,19	6,40
KI13	MRS	5,35	5,57	5,51	6,06	5,41	5,30	5,45	5,41	5,25
KI14	MRS	6,30	5,61	5,94	6,14	6,20	6,39	6,21	5,97	6,07
KI15	MRS	6,33	6,36	6,21	6,12	6,26	6,43	6,22	6,30	6,35
KI16	MRS	6,26	6,35	6,29	6,19	6,21	6,37	6,21	5,98	6,24
KI17	MRS	6,41	6,38	6,12	6,20	6,29	6,36	6,20	6,27	6,31
KI18	MRS	6,30	6,40	6,26	6,19	6,13	6,31	6,41	6,37	6,32
KI19	MRS	6,38	6,39	6,27	6,29	6,29	6,60	6,25	6,38	6,44
KI20	MRS	6,30	6,34	6,14	6,19	6,37	6,55	6,20	6,26	6,43
KI21	MRS	6,30	6,37	6,17	6,18	6,31	6,35	6,25	6,35	6,35
KI22	MRS	6,59	6,36	6,14	6,18	6,34	6,47	6,22	6,37	6,41

Çizelge 4.22 (Devamı) Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker konsantrasyonlarında pH değişimi (inkübasyon sonrası)

LAB Kodu	Besiyeri	Fruktoz	Sükroz	Maltoz	Galaktoz	Glikoz	Mannitol	Ksiloz	Laktoz	Sorbitol
KI23	MRS	6,44	6,34	6,12	6,16	6,38	6,50	6,28	6,13	6,41
KI24	MRS	6,40	6,38	6,11	6,24	6,22	6,52	6,21	5,99	6,46
KI25	MRS	6,39	6,38	6,27	6,18	6,58	6,41	6,32	6,12	6,27
KI26	MRS	6,40	6,42	6,21	6,23	6,30	6,36	6,23	6,13	6,36
KI27	MRS	6,40	6,37	6,25	6,22	6,35	6,37	6,24	6,44	6,22
KI28	MRS	6,27	6,38	6,19	6,17	6,38	6,43	6,28	6,46	6,30
KI29	MRS	6,36	6,39	6,17	6,18	6,26	6,39	6,21	6,41	6,26

LAB: Laktik asit bakteri kodu MRS:De Man, Rogosa and Sharpe

4.6 Farklı Şeker Türlerinde Gaz Oluşumu ve Bulanıklık

İzole edilen laktik asit bakterilerinin fermantatif özelliklerini belirlemek amacıyla hazırlanan şeker çözeltilerinin pH değişimi takibinden sonraki aşamada; şeker çözeltilerinin içine bırakılan durham tüplerindeki gaz oluşumu ve besiyerindeki bulanıklık gözlemlenerek aşağıdaki çizelgeler oluşturulmuştur.

Aşağıdaki şekillerde 9 şeker türüne (fruktoz, sükroz, maltoz, galaktoz, glikoz, mannitol, ksiloz, laktoz, sorbitol) ait Afyon, İzmir, Ankara bölge için gaz oluşturma yüzdeleri ve bulanıklık gözlemlenme yüzdeleri ile 3 bölge için de toplam olarak gaz oluşturma ve bulanıklık gözlemlenme yüzdeleri verilmiştir.

Çizelge 4.23 Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker türlerindeki gaz oluşumu ve bulanıklık değerleri

LAB Kodu	Besiyeri	FRUKTOZ		SÜKROZ		MALTOZ		GALAKTOZ		GLİKOZ		MANNİTOL		KSİLOZ		LAKTOZ		SORBİTOL	
		G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B
KA1	MRS	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
KA1	MRS	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
KA2	MRS	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KA2	MRS	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
KI1	MRS	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
KI1	MRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KI2	MRS	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
KI2	MRS	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
KA1	M17	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+
KA1	M17	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
KA2	M17	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+
KA2	M17	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
KI1	M17	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
KI1	M17	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
KI2	M17	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
KI2	M17	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+

LAB: laktik asit bakterisi G: gaz oluşumu; B: bulanıklık.

Çizelge 4.24 İzmir bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker türlerindeki gaz oluşumu ve bulanıklık değerleri

LAB Kodu	Kefir türü	Besiyeri	FRUKTOZ		SÜKROZ		MALTOZ		GALAKTOZ		GLİKOZ		MANNİTOL		KSİLOZ		LAKTOZ		SORBİTOL	
			G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B
KA1	Kafkas	MRS	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
KA2	Kafkas	MRS	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
KA3	Kafkas	MRS	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
KA4	Kafkas	MRS	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
KA5	Kafkas	MRS	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
KA6	Kafkas	MRS	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
KA7	Kafkas	MRS	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
KA8	Kafkas	MRS	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
KA9	Kafkas	MRS	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+
KA10	Kafkas	M17	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+
KA11	Kafkas	M17	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+
KA12	Kafkas	M17	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
KA13	Kafkas	M17	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
KA14	Kafkas	M17	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-
KI1	Kırgız	MRS	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+
KI2	Kırgız	MRS	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
KI3	Kırgız	MRS	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
KI4	Kırgız	MRS	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
KI5	Kırgız	MRS	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+
KI6	Kırgız	MRS	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
KI7	Kırgız	MRS	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
KI8	Kırgız	M17	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
KI9	Kırgız	M17	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-

LAB: laktik asit bakterisi G: gaz oluşumu; B: bulanıklık.

Çizelge 4.25 Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker türlerindeki gaz oluşumu ve bulanıklık değerleri

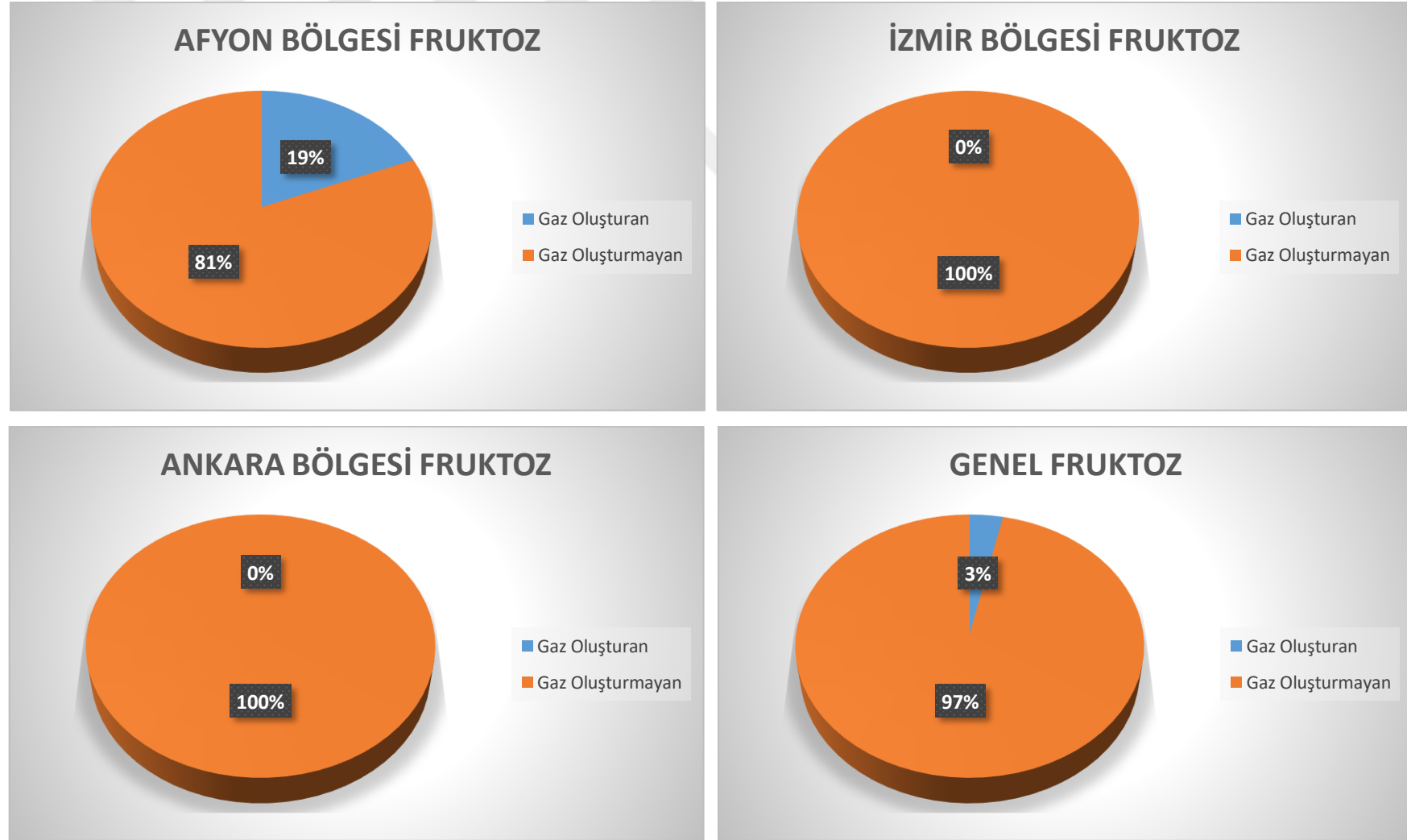
LAB Kodu	Kefir türü	Besiyeri	FRUKTOZ		SÜKROZ		MALTOZ		GALAKTOZ		GLİKOZ		MANNİTOL		KSİLOZ		LAKTOZ		SORBİTOL	
			G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B
KA1	Kafkas	MRS	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
KA2	Kafkas	MRS	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
KA3	Kafkas	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
KA4	Kafkas	MRS	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
KA5	Kafkas	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
KA6	Kafkas	MRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
KA7	Kafkas	MRS	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
KA8	Kafkas	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
KA9	Kafkas	MRS	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
KA10	Kafkas	MRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
KA11	Kafkas	MRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
KA12	Kafkas	MRS	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
KA13	Kafkas	MRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
KA14	Kafkas	MRS	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KA15	Kafkas	MRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
KA16	Kafkas	MRS	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KA17	Kafkas	MRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
KA18	Kafkas	MRS	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KA19	Kafkas	MRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
KA20	Kafkas	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
KA21	Kafkas	MRS	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
KI1	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-
KI2	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
KI3	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
KI4	Kırgız	MRS	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-

LAB: laktik asit bakterisi G: gaz oluşumu; B: bulanıklık.

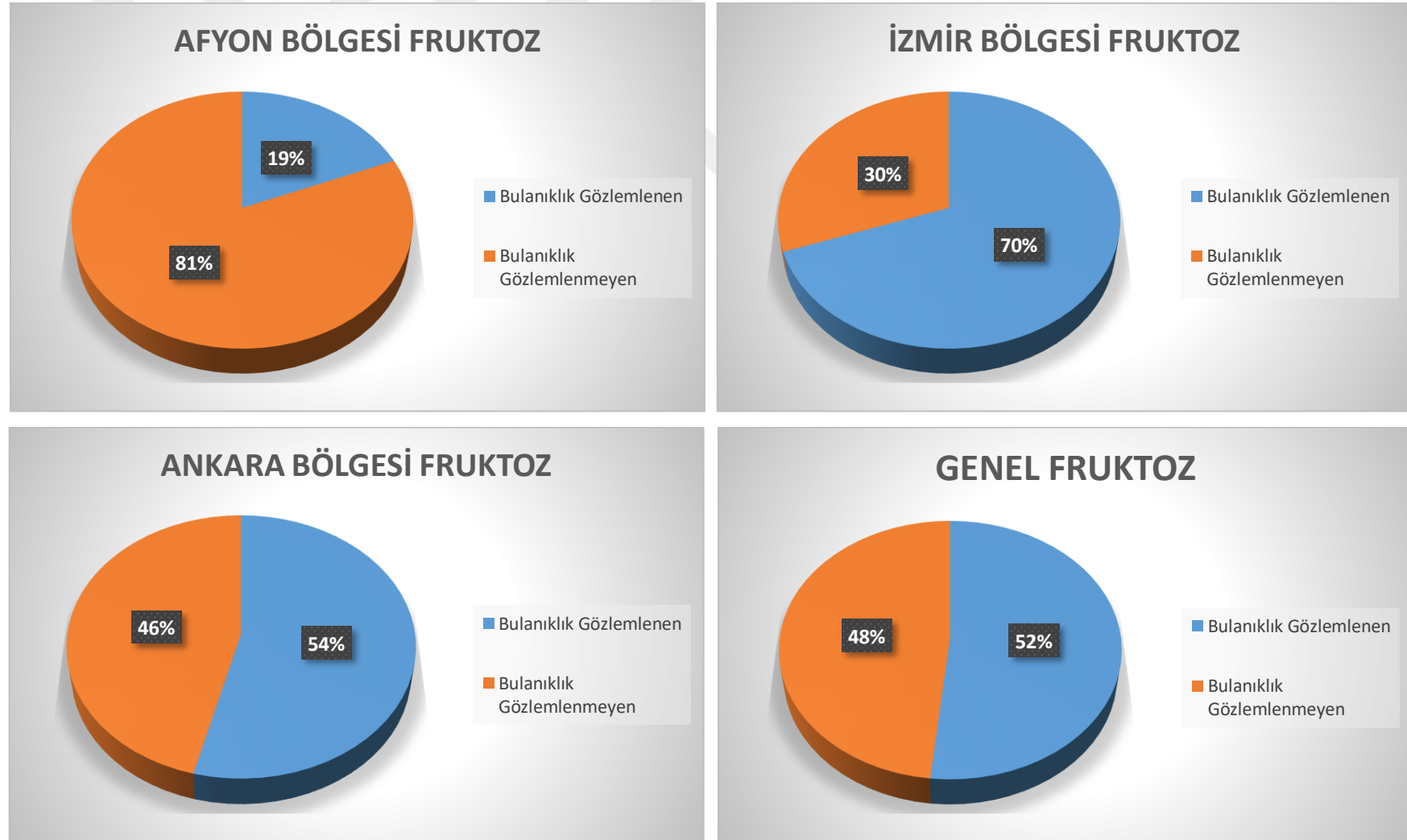
Çizelge 4.25 (Devamı) Ankara bölgesinden izole edilen bakterilerin farklı şeker türlerindeki gaz oluşumu ve bulanıklık değerleri

LAB Kodu	Kefir türü	Besiyeri	FRUKTOZ		SÜKROZ		MALTOZ		GALAKTOZ		GLİKOZ		MANNİTOL		KSİLOZ		LAKTOZ		SORBİTOL	
			G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B	G	B
KI5	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
KI6	Kırgız	MRS	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
KI7	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
KI8	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
KI9	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
KI10	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
KI11	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
KI12	Kırgız	MRS	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
KI13	Kırgız	MRS	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+
KI14	Kırgız	MRS	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+
KI15	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
KI16	Kırgız	MRS	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
KI17	Kırgız	MRS	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
KI18	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-
KI19	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-
KI20	Kırgız	MRS	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KI21	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
KI22	Kırgız	MRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KI23	Kırgız	MRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
KI24	Kırgız	MRS	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
KI25	Kırgız	MRS	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
KI26	Kırgız	MRS	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
KI27	Kırgız	MRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
KI28	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
KI29	Kırgız	MRS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-

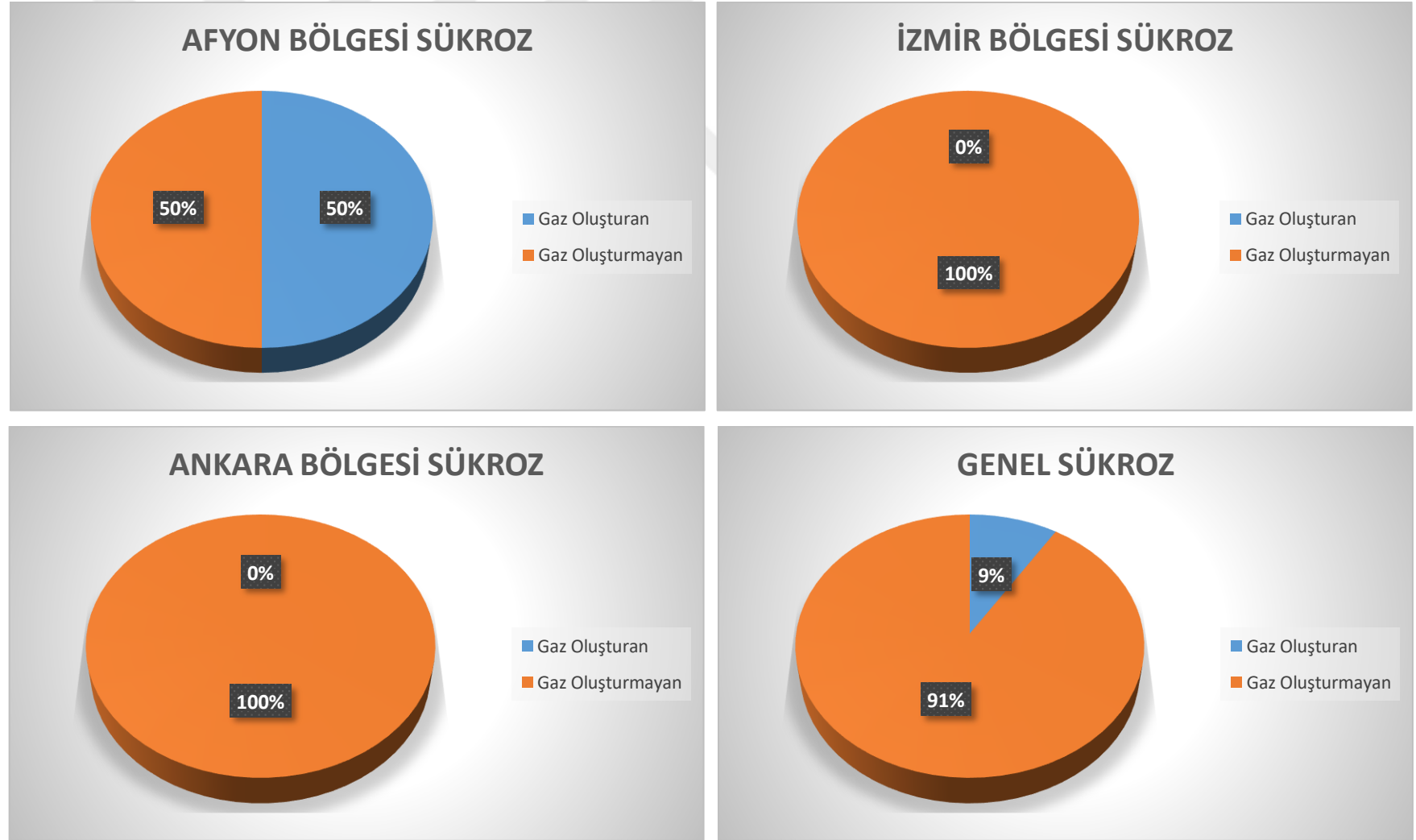
LAB: laktik asit bakterisi G: gaz oluşumu; B: bulanıklık.



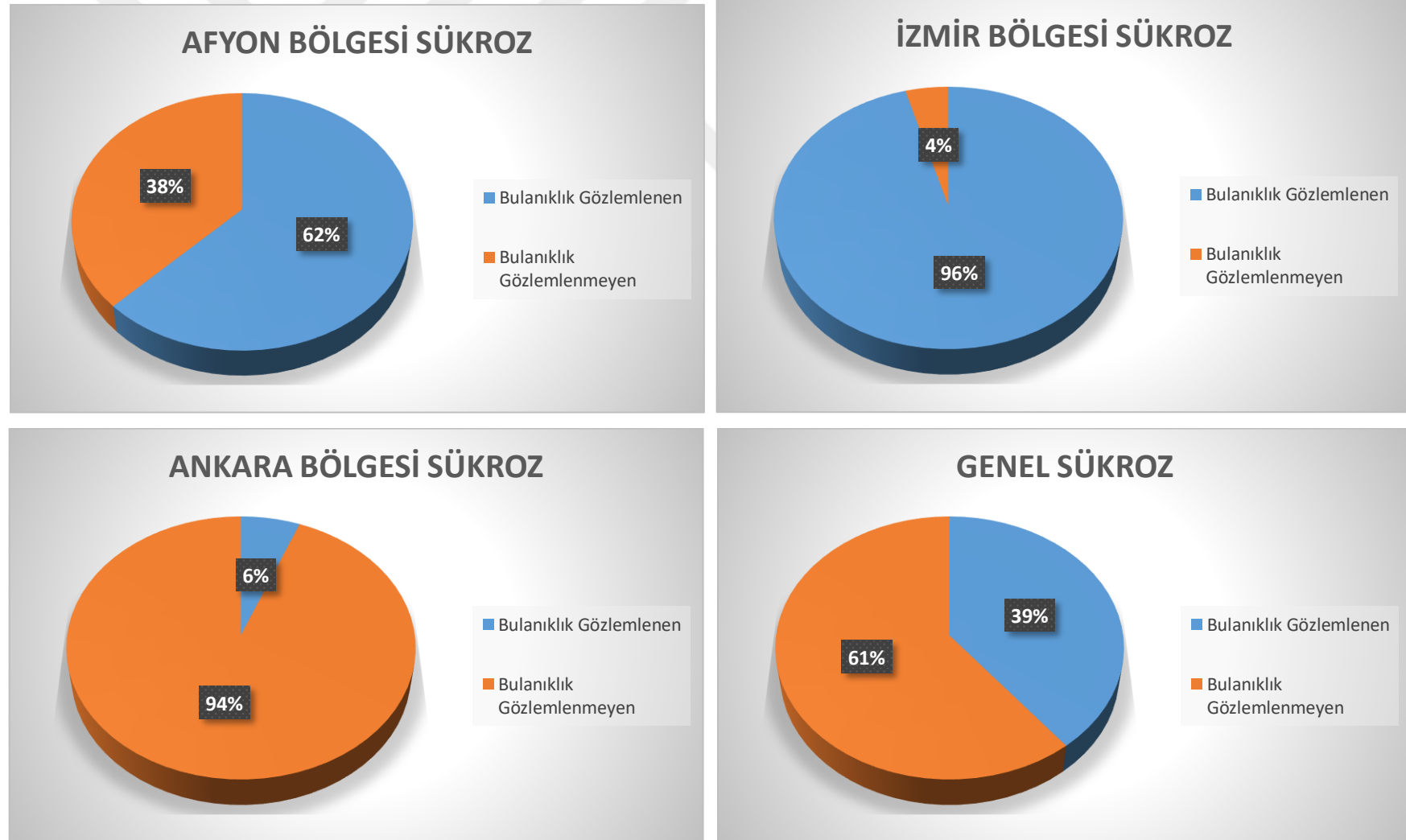
Şekil 4.10 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için fruktozda gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri



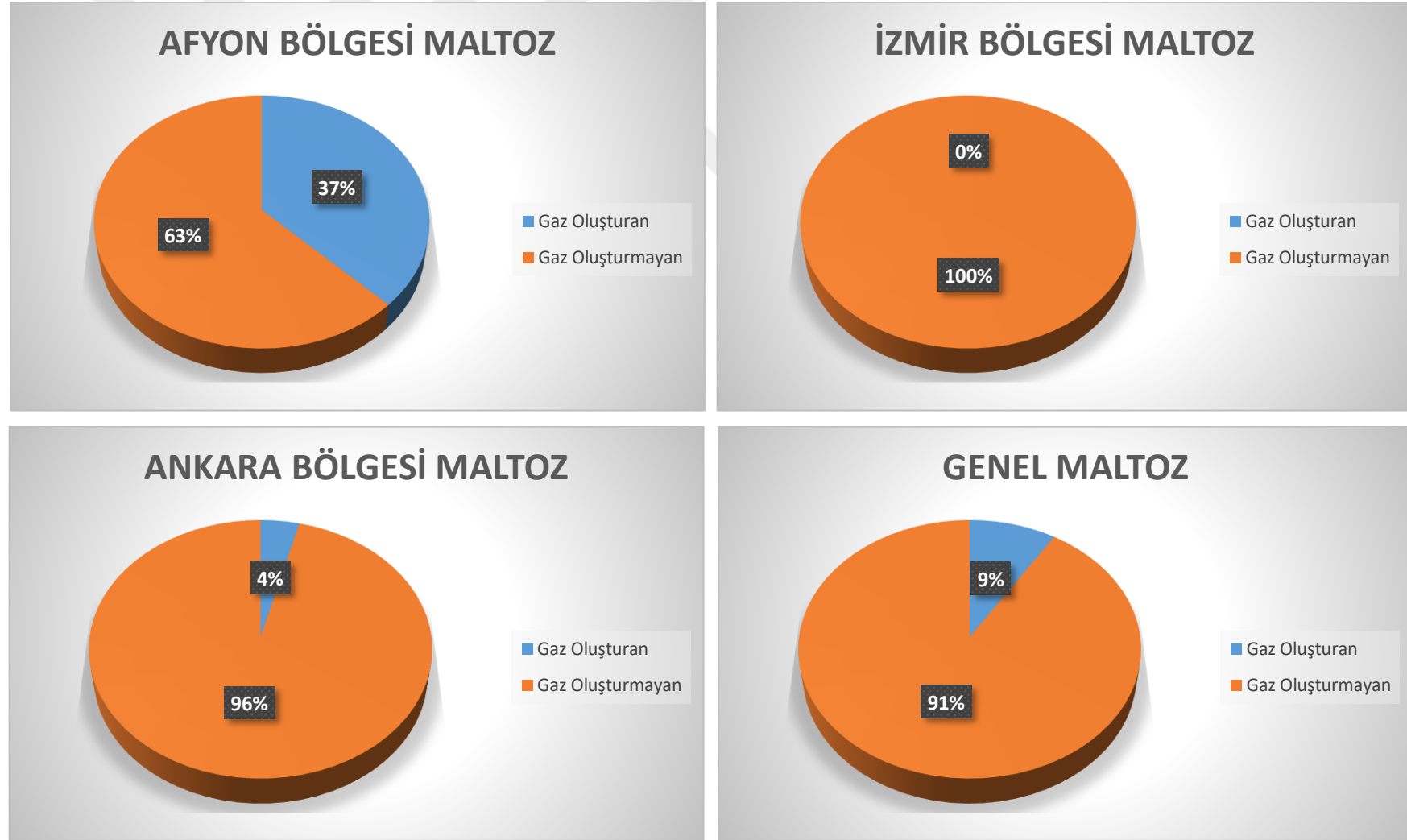
Şekil 4.11 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için fruktozda bulanıklık gözlemlenme yüzdeleri



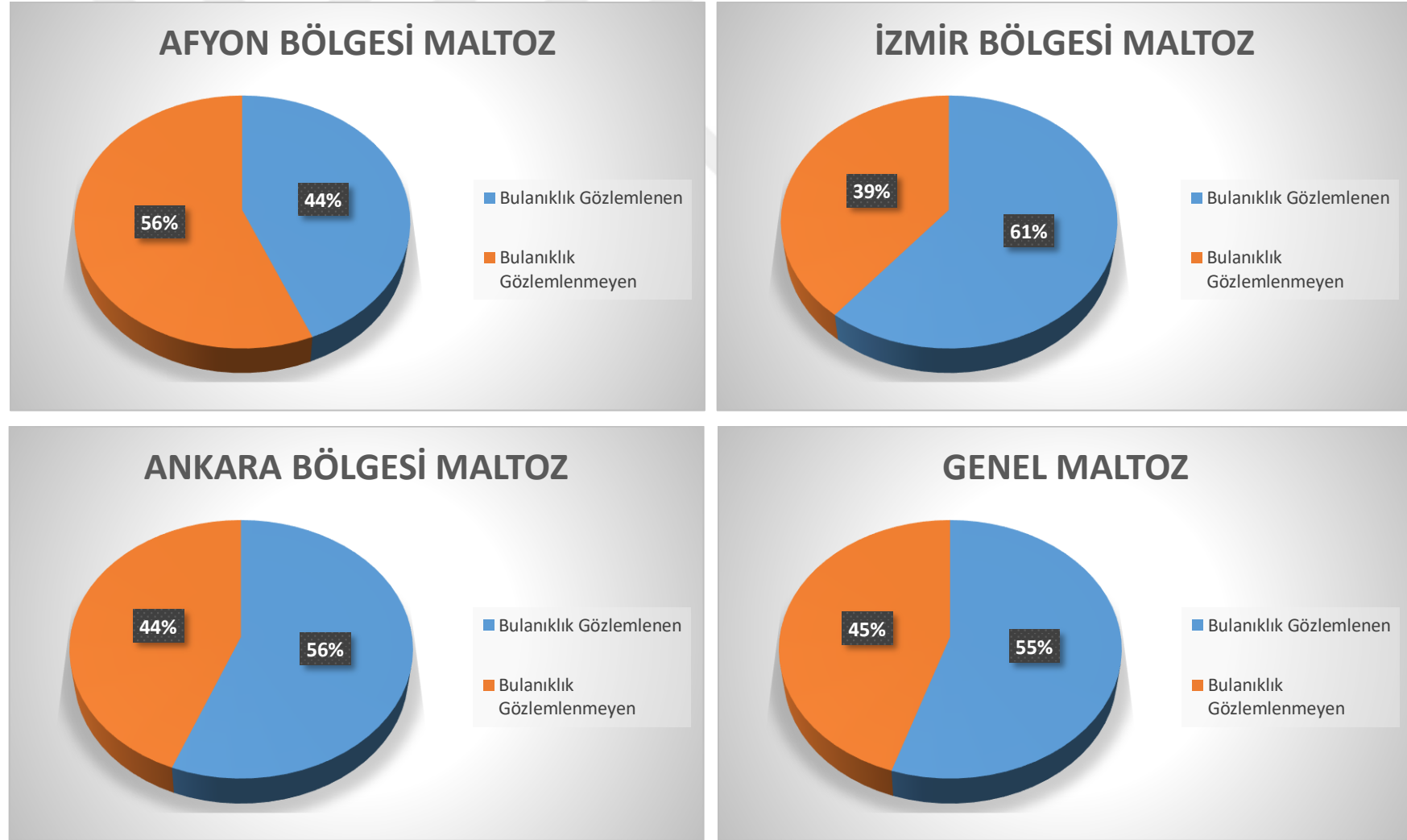
Şekil 4.12 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için sükrozda gaz oluşturma/oluşturmama yüzdeleri



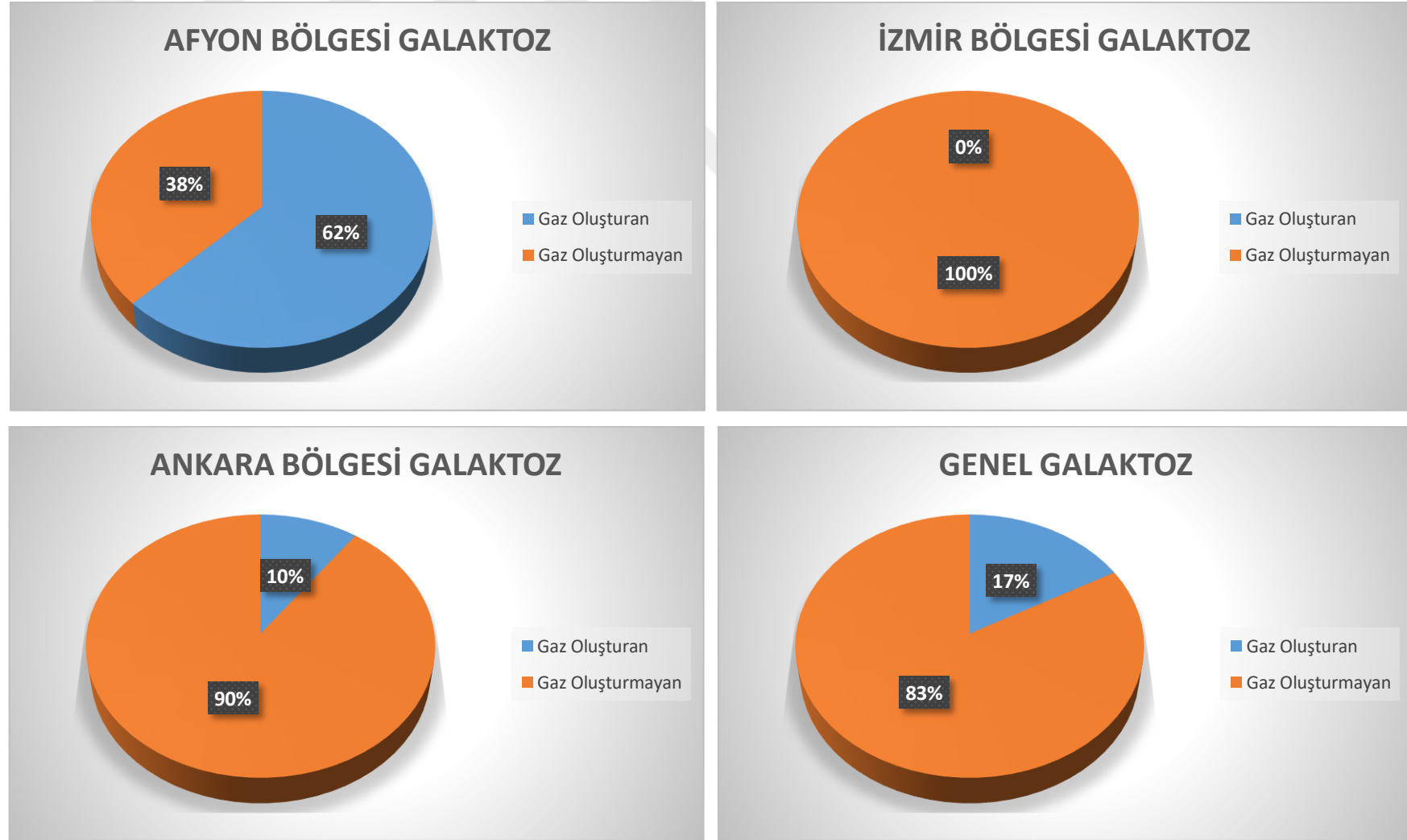
Şekil 4.13 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için sükrözde bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri



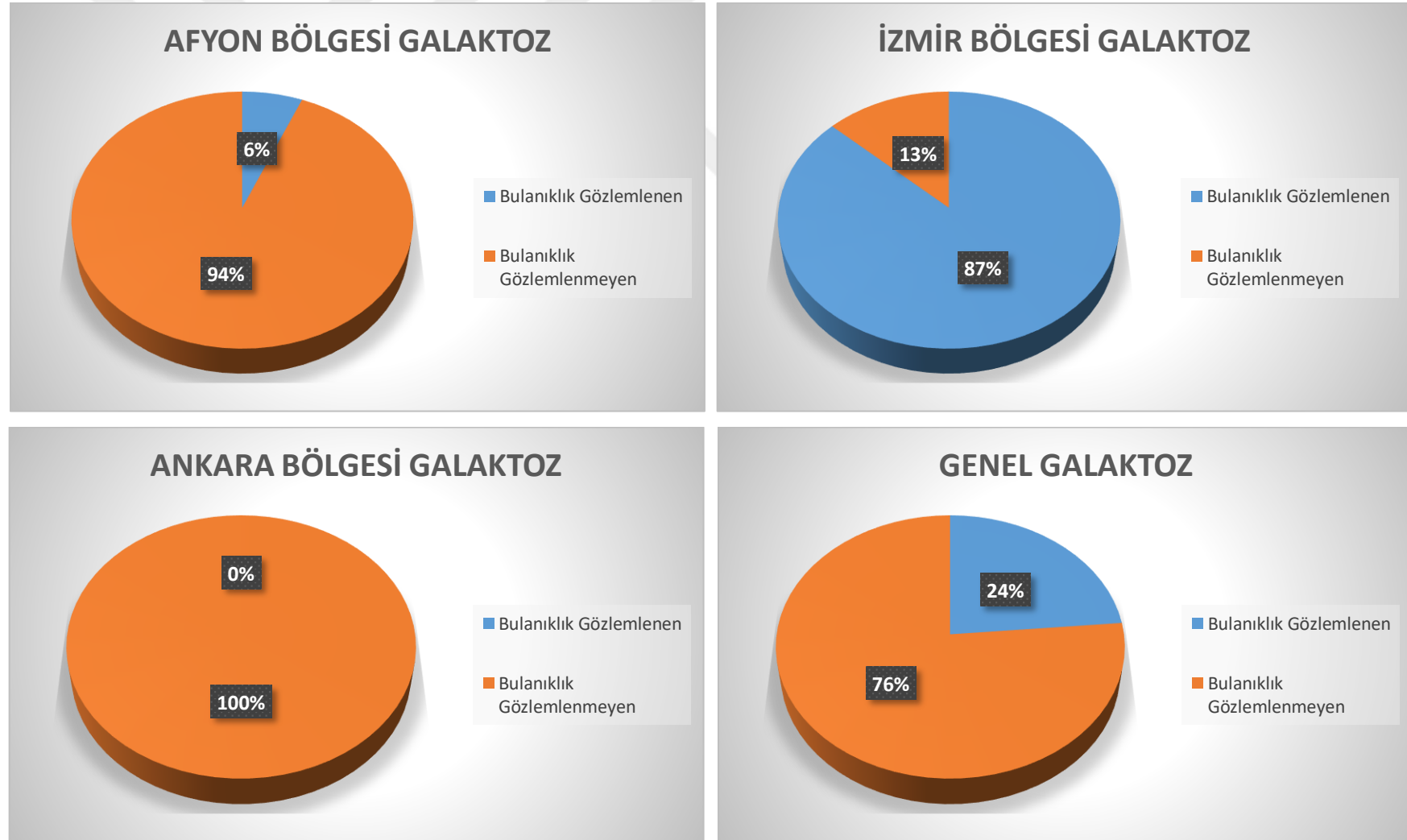
Şekil 4.14 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için maltozta gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri



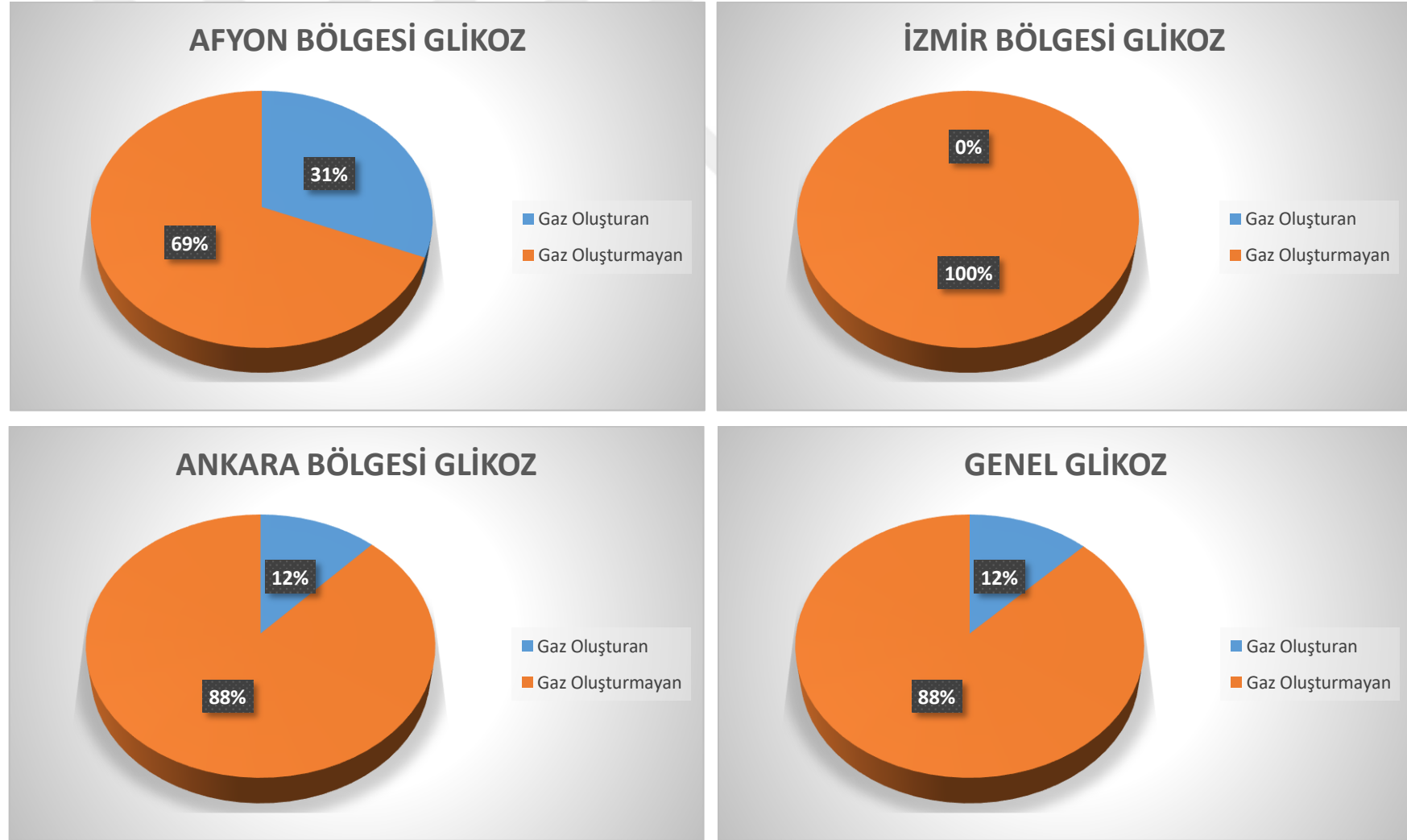
Şekil 4.15 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için maltozta bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri



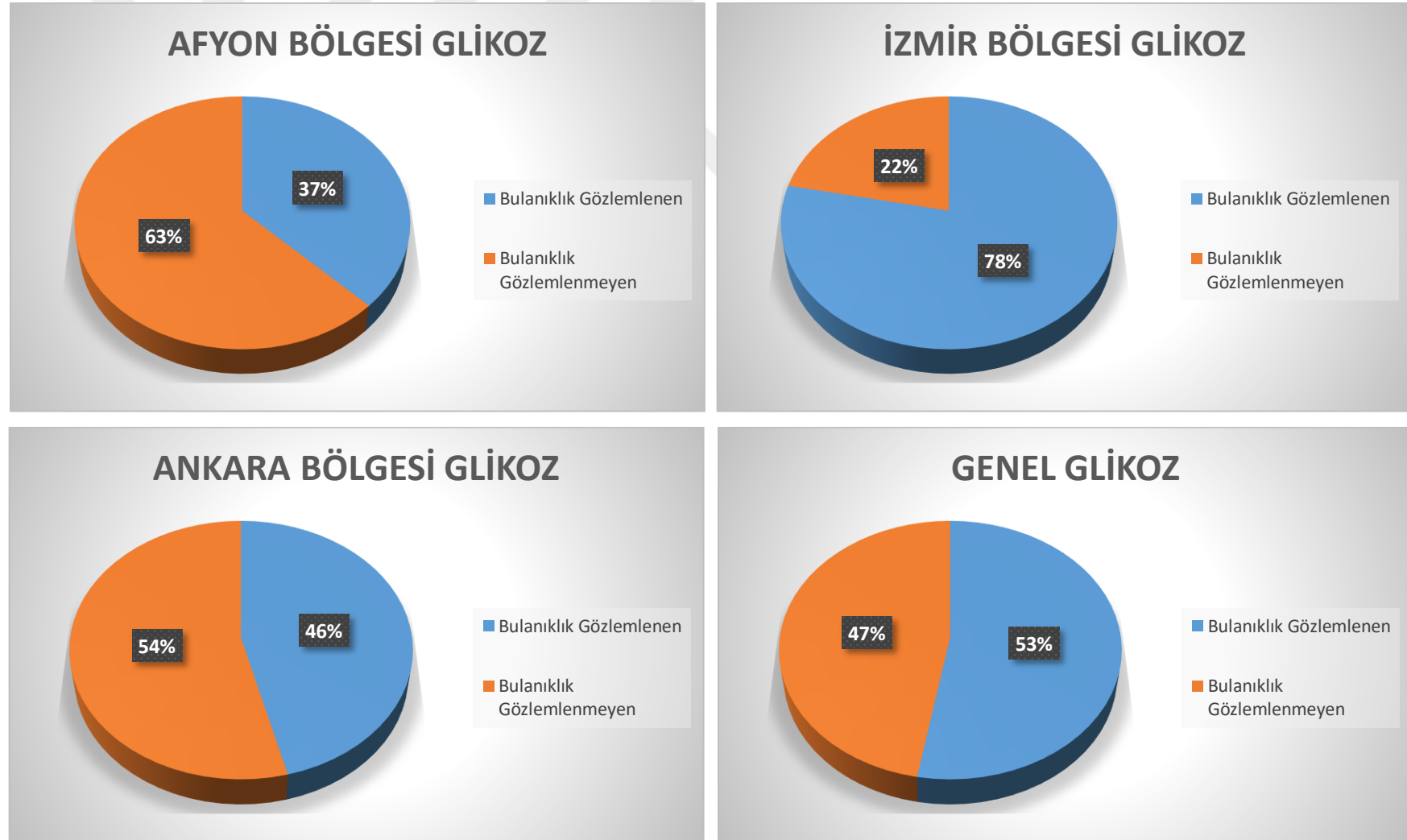
Şekil 4.16 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için galaktozda gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri



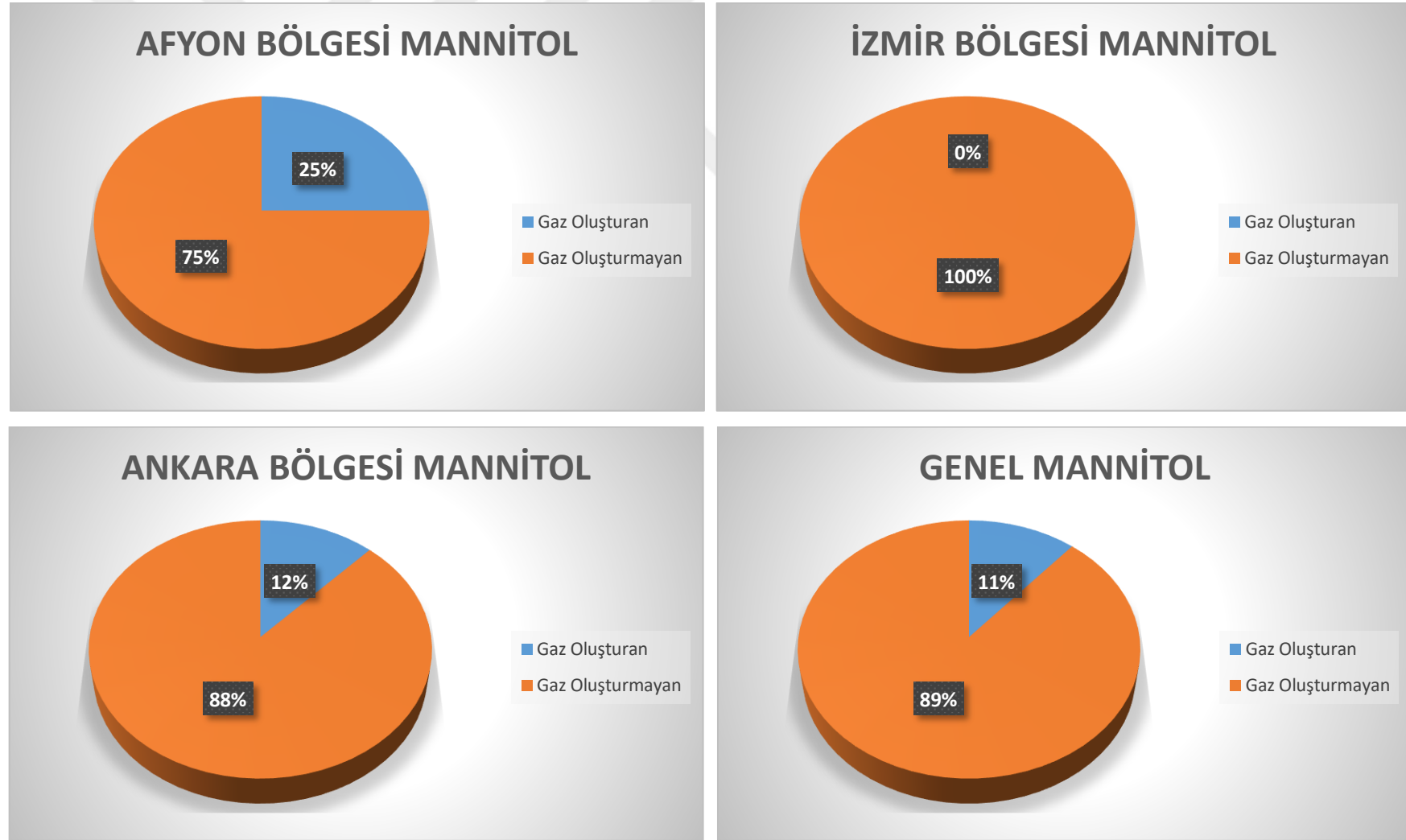
Şekil 4.17 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için maltozta bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri



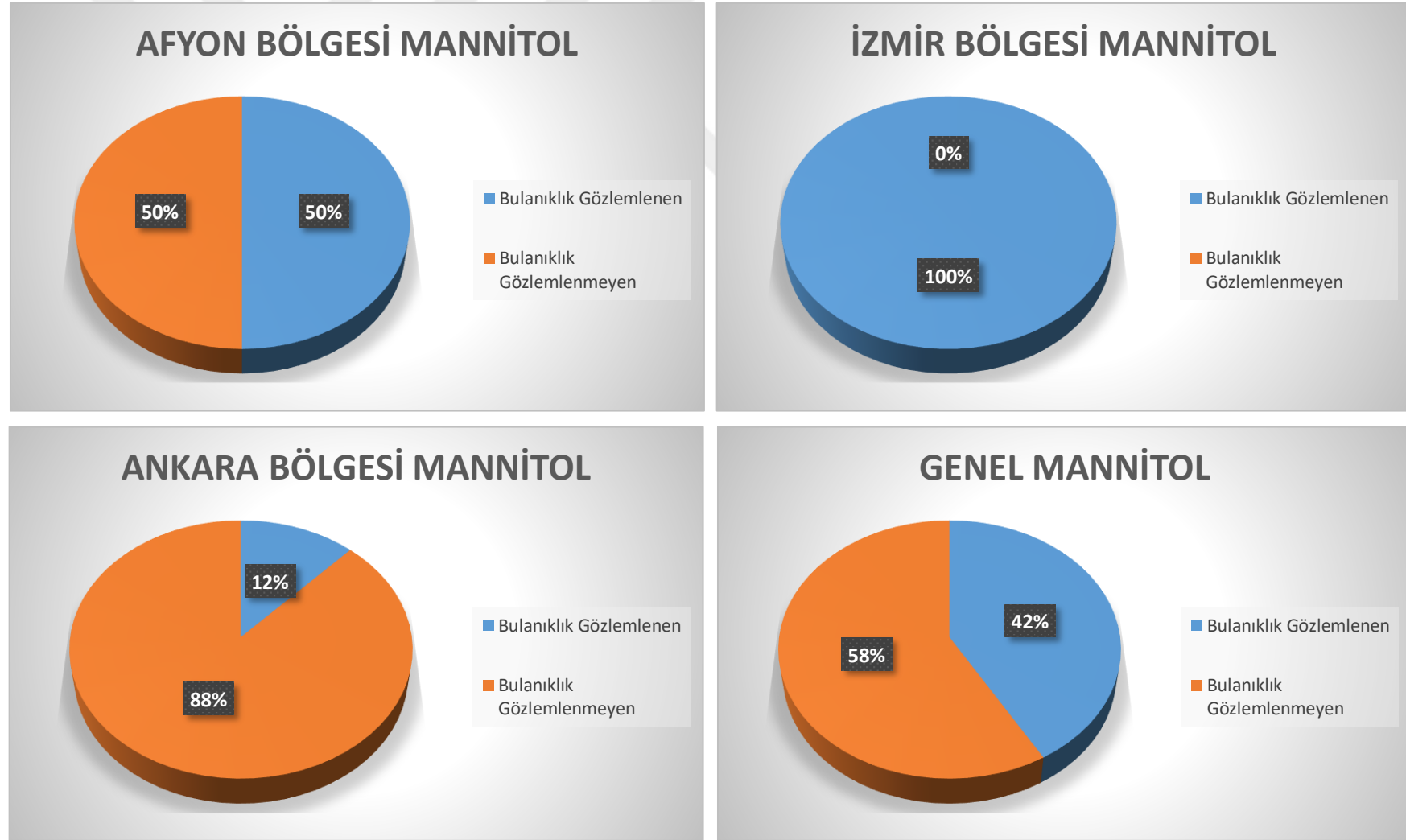
Şekil 4.18 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için galaktozda gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri



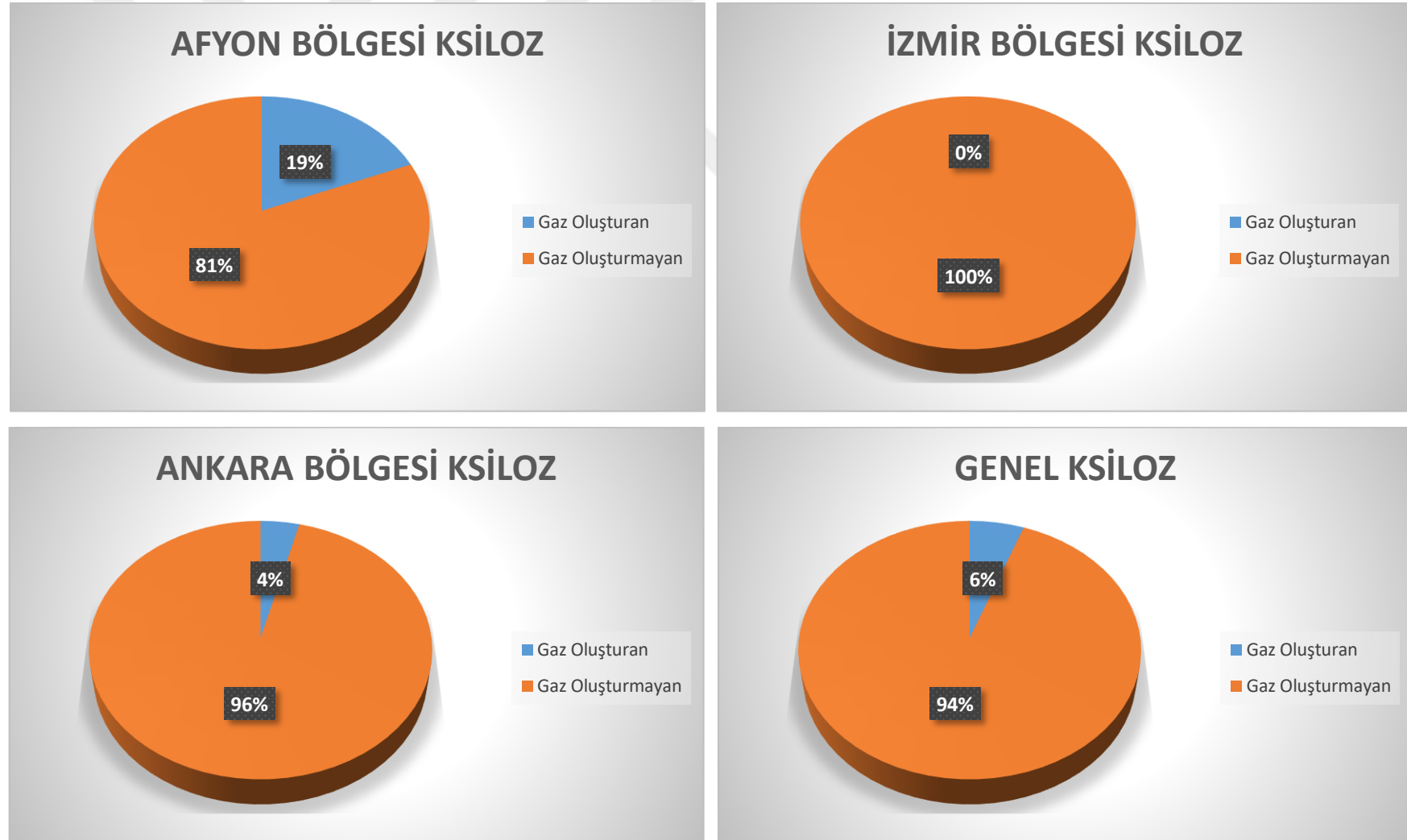
Şekil 4.19 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için glikozda bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri



Şekil 4.20 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için mannitolda gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri



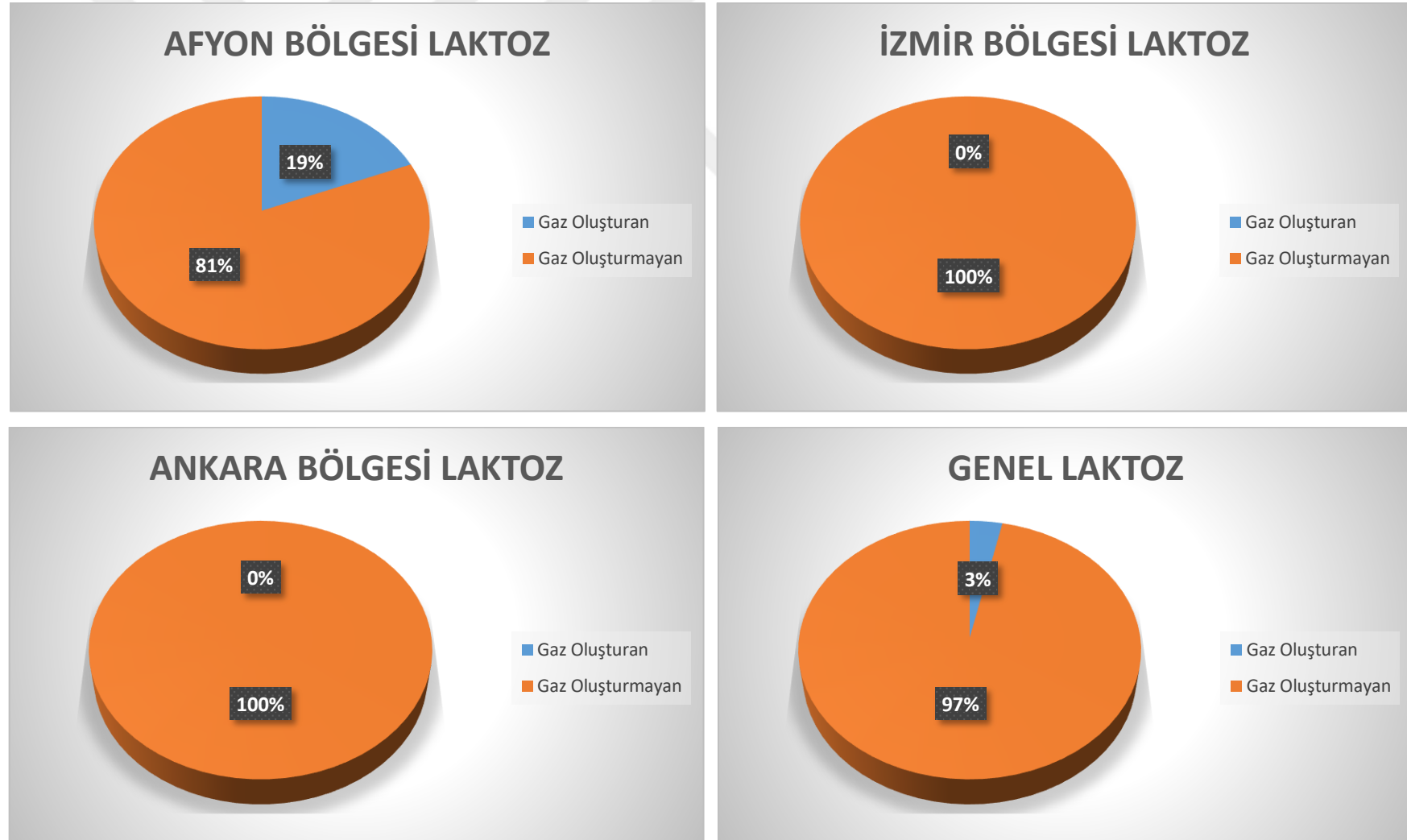
Şekil 4.21 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için mannitol bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri



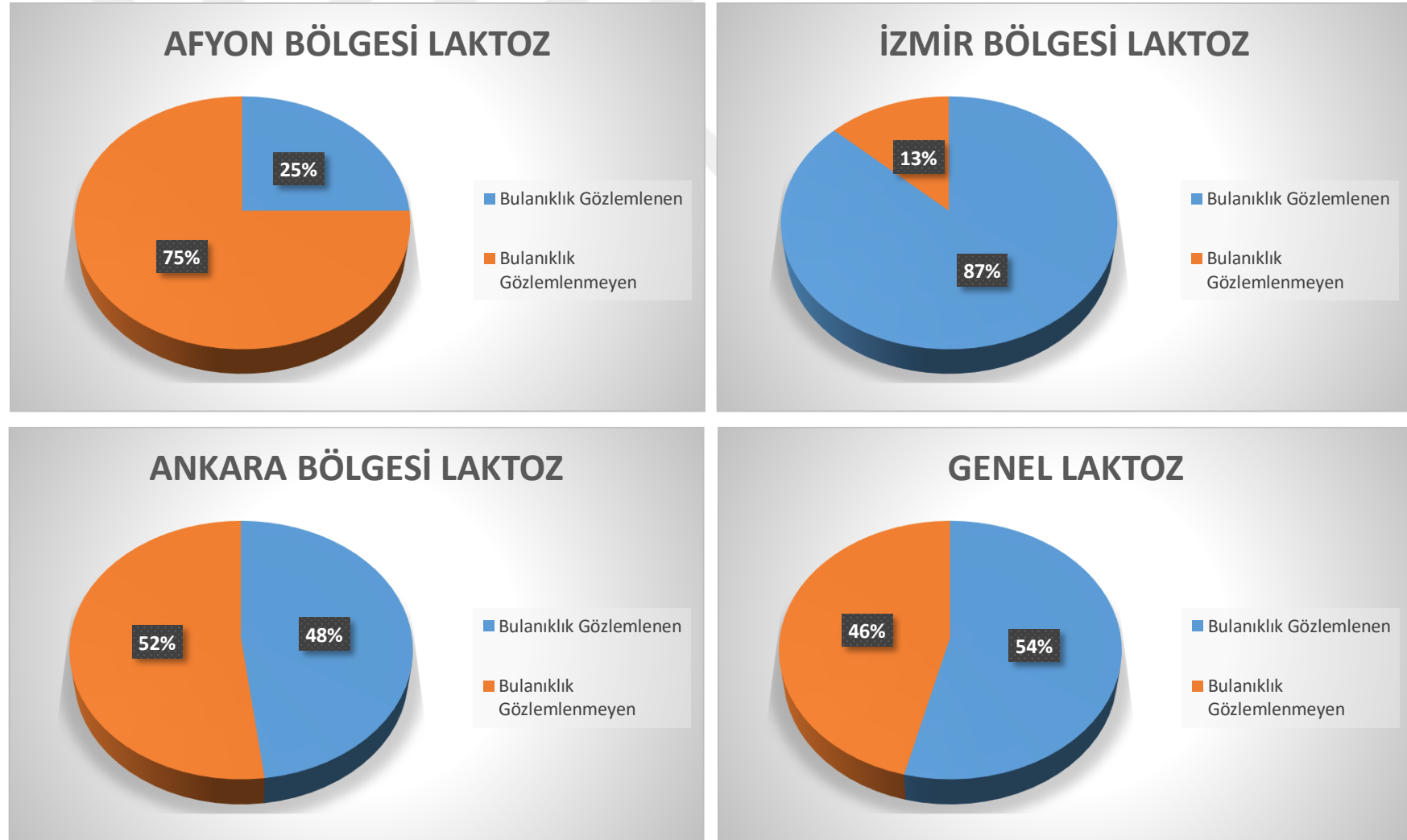
Şekil 4.22 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için ksiloza gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri



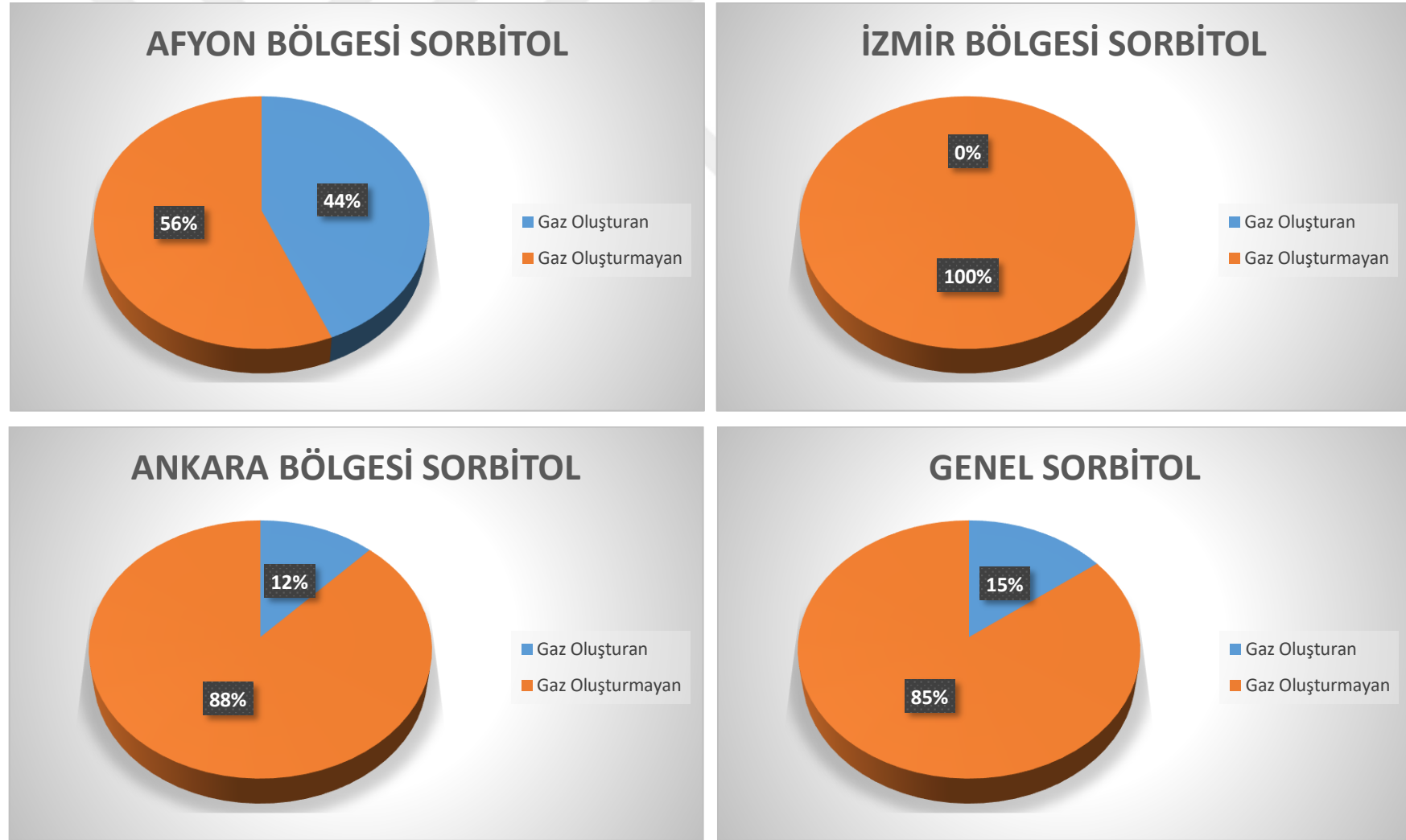
Şekil 4.23 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için ksiloza bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri



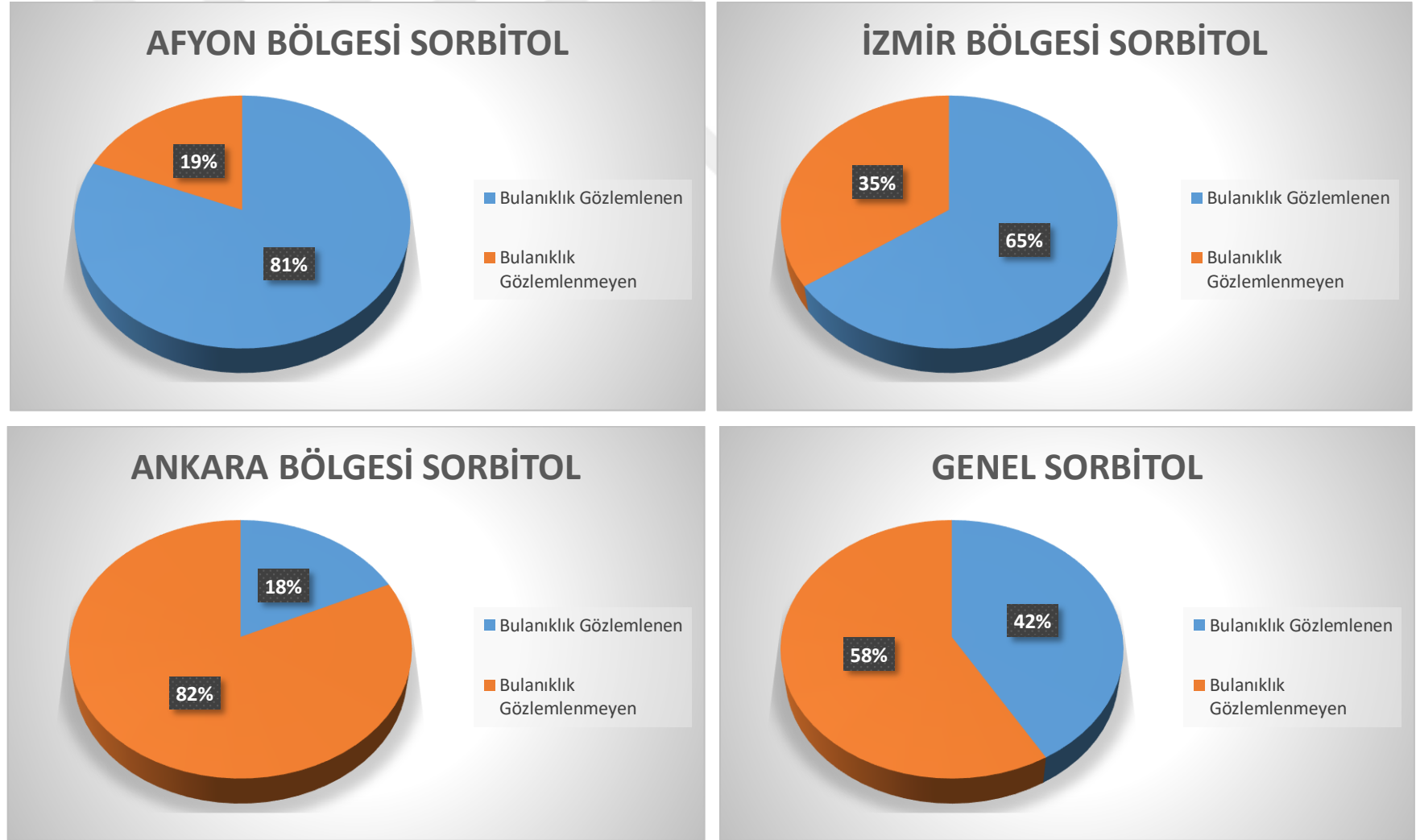
Şekil 4.24 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için laktozta gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri



Şekil 4.25 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için laktozda bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri

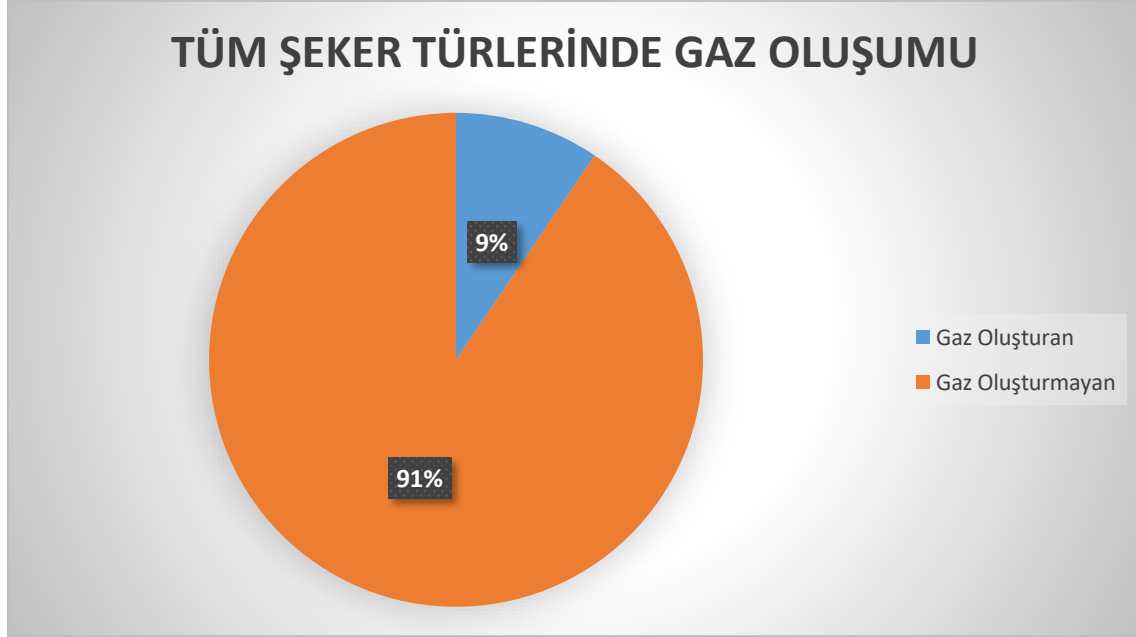


Şekil 4.26 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için sorbitolde gaz oluşturma / oluşturmama yüzdeleri

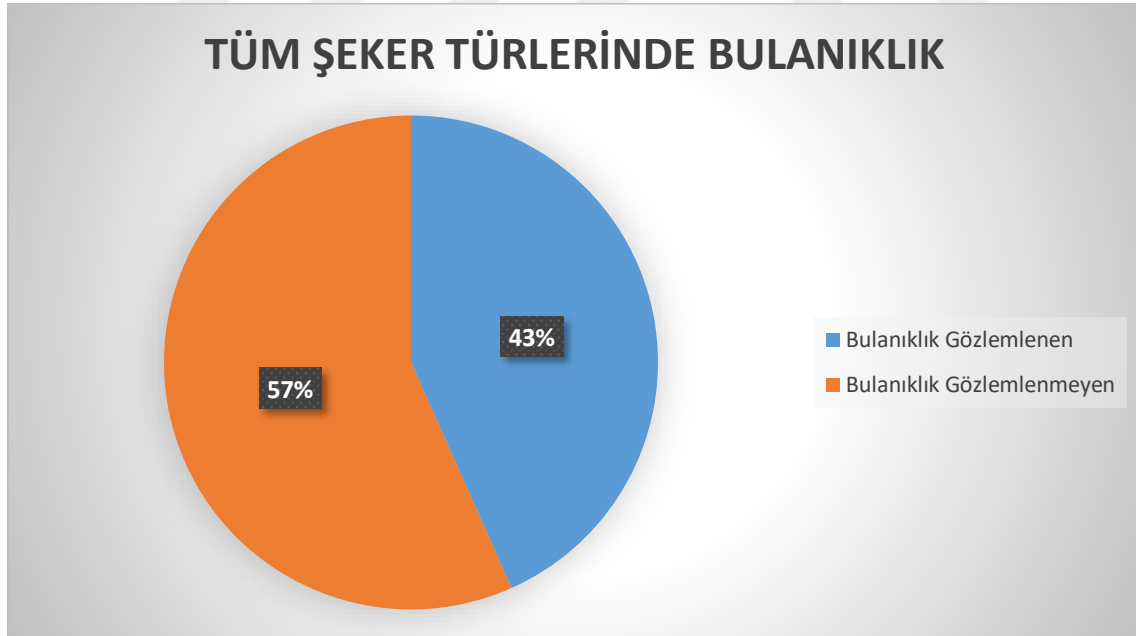


Şekil 4.27 Her bir bölge ve tüm bölgelerdeki bakteriler için sorbitolde bulanıklık gözlemlenme / gözlemlenmeme yüzdeleri

Tüm şeker türleri için gaz oluşumu ve bulanıklık yüzdeleri Şekil 4.28’de ve Şekil 4.29’da verilmiştir.



Şekil 4.28 Tüm şeker türleri için gaz oluşumu yüzdeleri



Şekil 4.29 Tüm şeker türleri için bulanıklık yüzdeleri

4.7 Kefir Danesinden İdentifiye Edilen Laktik Asit Bakterileri

3 bölgeden temin edilen kefir danelerinden izole edilen laktik asit bakterileri türleriyle birlikte Çizelge 2.4’de verilmiştir.

Bulgular başlığında verilen sonuçlar incelendiğinde laktik asit bakterilerinin biyokimyasal tanısı Çizelge 5.1, Çizelge 5.2 ve Çizelge 5.3’te verilmiştir.

Çizelge 4.26 Afyonkarahisar bölgesine ait laktik asit bakterilerin tanısı

LAB Kodu	Kefir Türü	Biyokimyasal Tanı
KA1	Kafkas	<i>Lactobacillus fermentum</i>
KA1	Kafkas	<i>Streptococcus cremoris</i>
KA2	Kafkas	<i>Lactobacillus lactis</i>
KA2	Kafkas	<i>Lactobacillus parakefir</i>
KI1	Kırgız	<i>Streptococcus avium</i>
KI1	Kırgız	<i>Streptococcus thermophilus</i>
KI2	Kırgız	<i>Lactobacillus kefir</i>
KI2	Kırgız	<i>Streptococcus cremoris</i>
KA1	Kafkas	<i>Streptococcus durans</i>
KA1	Kafkas	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
KA2	Kafkas	<i>Streptococcus cremoris</i>
KA2	Kafkas	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
KI1	Kırgız	<i>Lactococcus rhamnosus</i>
KI1	Kırgız	<i>Streptococcus cremoris</i>
KI2	Kırgız	<i>Lactobacillus paracasei</i>
KI2	Kırgız	<i>Lactobacillus kefirgranum</i>

LAB:Laktik asit bakterisi

Çizelge 4.27 İzmir bölgesine ait laktik asit bakterilerinin tanısı

LAB Kodu	Kefir Türü	Biyokimyasal Tanısı
KA1	Kafkas	<i>Lactobacillus casei</i>
KA2	Kafkas	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
KA3	Kafkas	<i>Lactobacillus brevis</i>
KA4	Kafkas	<i>Lactobacillus helveticus</i>
KA5	Kafkas	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
KA6	Kafkas	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>
KA7	Kafkas	<i>Lactobacillus viridescens</i>
KA8	Kafkas	<i>Lactobacillus fermentum</i>
KA9	Kafkas	<i>Lactobacillus hilgardi</i>
KA10	Kafkas	<i>Streptococcus thermophilus</i>
KA11	Kafkas	<i>Streptococcus durans</i>
KA12	Kafkas	<i>Lactobacillus viridescens</i>

Çizelge 4.27 (Devamı) İzmir bölgesine ait laktik asit bakterilerinin tanısı

LAB Kodu	Kefir Türü	Biyokimyasal Tanısı
KA13	Kafkas	<i>Lactobacillus helveticus</i>
KA14	Kafkas	<i>Lactobacillus rhamnusus</i>
KI1	Kırgız	<i>Lactobacillus kefir</i>
KI2	Kırgız	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
KI3	Kırgız	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
KI4	Kırgız	<i>Leuconostoc spp</i>
KI5	Kırgız	<i>Streptococcus thermophilus</i>
KI6	Kırgız	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
KI7	Kırgız	<i>Lactobacillus plantum</i>
KI8	Kırgız	<i>Streptococcus kefir</i>
KI9	Kırgız	<i>Leuconostoc lactis</i>

LAB:Laktik asit bakterisi

Çizelge 4.28 Ankara bölgesine ait laktik asit bakterilerinin tanısı

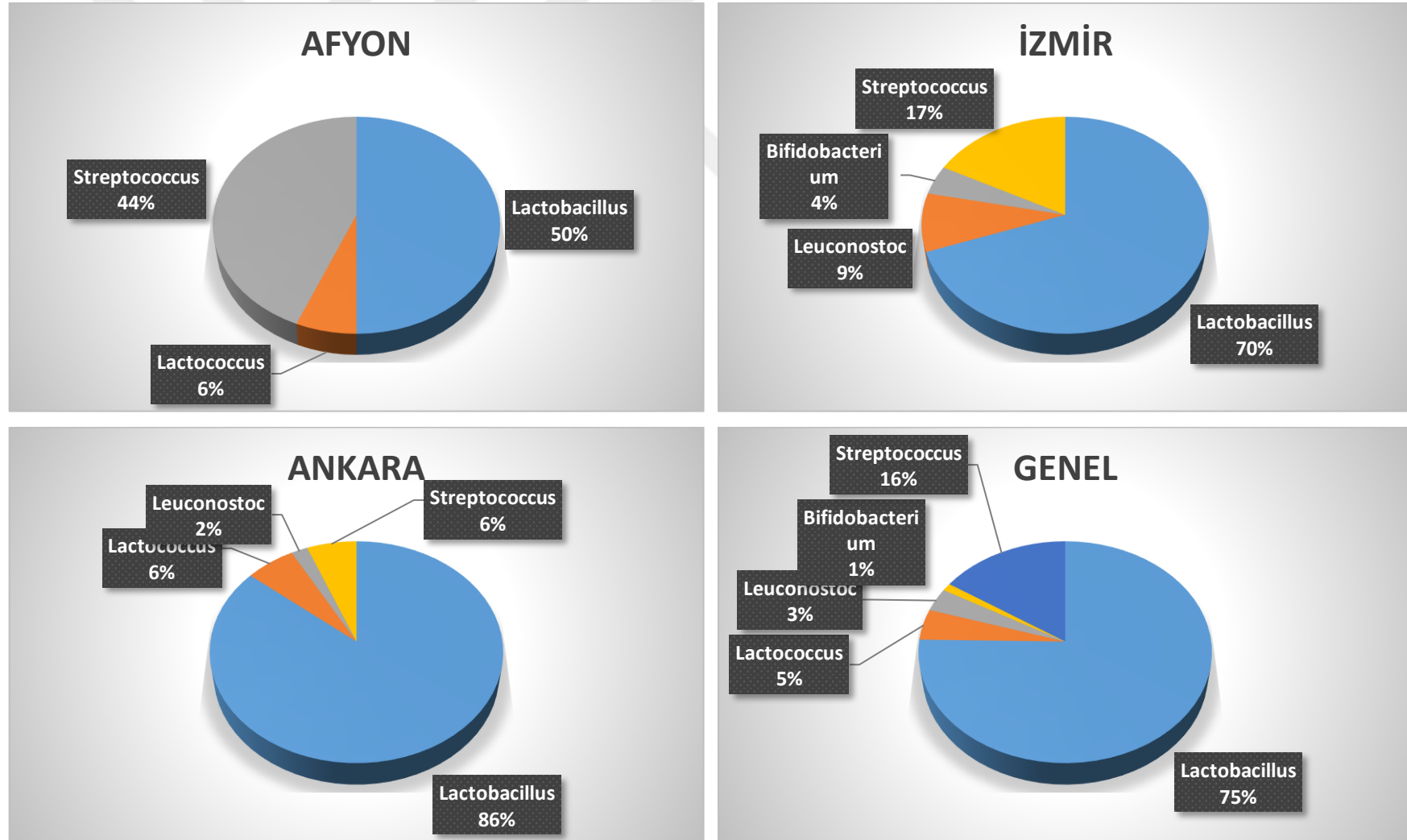
LAB Kodu	Kefir türü	Biyokimyasal Tanısı
KA1	Kafkas	<i>Lactobacillus crispatus</i>
KA2	Kafkas	<i>Lactobacillus viridescens</i>
KA3	Kafkas	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
KA4	Kafkas	<i>Streptococcus lactis</i>
KA5	Kafkas	<i>Lactobacillus paracasei</i>
KA6	Kafkas	<i>Lactobacillus fermentum</i>
KA7	Kafkas	<i>Lactobacillus curvatis</i>
KA8	Kafkas	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
KA9	Kafkas	<i>Lactobacillus amyolyticus</i>
KA10	Kafkas	<i>Lactobacillus kefir</i>
KA11	Kafkas	<i>Lactobacillus fructivorans</i>
KA12	Kafkas	<i>Lactobacillus parakefir</i>
KA13	Kafkas	<i>Lactobacillus rhamnusus</i>
KA14	Kafkas	<i>Lactobacillus casei</i>
KA15	Kafkas	<i>Streptococcus thermophilus</i>
KA16	Kafkas	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
KA17	Kafkas	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>
KA18	Kafkas	<i>Lactobacillus hilgardi</i>
KA19	Kafkas	<i>Lactobacillus plantarum</i>
KA20	Kafkas	<i>Lc. lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis</i>
KA21	Kafkas	<i>Lactobacillus helveticus</i>
KI1	Kırgız	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
KI2	Kırgız	<i>Lactobacillus fructivorans</i>
KI3	Kırgız	<i>Lactobasillus crispatus</i>
KI4	Kırgız	<i>Lactobacillus gasseri</i>
KI5	Kırgız	<i>Lactobacillus citreum</i>
KI6	Kırgız	<i>Lactobacillus fermentum</i>

Çizelge 4.28 (Devamı) Ankara bölgesine ait laktik asit bakterilerinin tanısı

LAB Kodu	Kefir türü	Biyokimyasal Tanısı
KI7	Kırgız	<i>Lactobacillus amylovorus</i>
KI8	Kırgız	<i>Lactobacillus crispatus</i>
KI9	Kırgız	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>
KI10	Kırgız	<i>Lactobacillus helveticus</i>
KI11	Kırgız	<i>Lactobacillus cellobiosus</i>
KI12	Kırgız	<i>Lactobacillus helveticus</i>
KI13	Kırgız	<i>Lactobacillus brevis</i>
KI14	Kırgız	<i>Lactobacillus viridescens</i>
KI15	Kırgız	<i>Lactobacillus citreum</i>
KI16	Kırgız	<i>Lactococcus garvieae</i>
KI17	Kırgız	<i>Lactobacillus amylolyticus</i>
KI18	Kırgız	<i>Lactobacillus parakefir</i>
KI19	Kırgız	<i>Lactobacillus crispatus</i>
KI20	Kırgız	<i>Lactobacillus fermentum</i>
KI21	Kırgız	<i>Streptococcus thermophilus</i>
KI22	Kırgız	<i>Lactobacillus brevis</i>
KI23	Kırgız	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
KI24	Kırgız	<i>Lactobacillus cellobiosus</i>
KI25	Kırgız	<i>Lactobacillus viridescens</i>
KI26	Kırgız	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>
KI27	Kırgız	<i>Lactococcus chungangensis</i>
KI28	Kırgız	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
KI29	Kırgız	<i>Lactobacillus plantarum</i>

LAB:Laktik asit bakterisi

Kefir danelerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin dağılım yüzdeleri Şekil 4.30'da verilmiştir.



Şekil 4.30 Her bir bölge için izole edilen laktik asit bakterileri ve yüzdeleri

5 TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmamızda Afyonkarahisar, Ankara ve İzmir illerinden kefir daneleri tedarik edilmiştir. 3 farklı bölgeden temin edilen danelerden Afyonkarahisar bölgesi için 4, Ankara bölgesi için 50, İzmir bölgesi için 23 laktik asit bakterisi izole edilmiştir. İzole edilen toplam 71 laktik asit bakterisine ön doğrulama amacıyla gram boyama analizi yapılarak mikroskop altında gözlemlenmiştir. Ayrıca bakterilerin üreaz ve katalaz aktivitesi incelenmiştir. Ardından bu bakterilerin 4 farklı sıcaklık (4-10-37-15 °C) , 4 farklı tuz konsantrasyonu (%4-%6-%8-%10), 3 farklı pH değeri (4,5-6,8- 9,8), 9 farklı şekerde (fruktoz, sükroz, maltoz, galaktoz, glikoz, ksiloz, mannitol, sorbitol, laktoz) gelişimleri gözlemlenmiştir. Yapılan analizler neticesinde elde edilen veriler ile laktik asit bakterilerinin tanımlaması yapılmıştır. Tanımlama işlemi yapılan laktik asitler bakterilerinin doğrulama analizleri API 50 CHL ve API 20 STREP test kitleriyle kontrol edilmiştir.

5.1 Gram Boyama, Katalaz ve Üreaz Aktivitesi

Tanımlaması yapılan Afyonkarahisar bölgesine ait 4 tür laktik asit bakterisinin Çizelge 4.1’de görüldüğü üzere tamamı (%100) gram pozitif, tamamı (%100) katalaz negatif, tamamı (%100) üreaz negatif özellikte olduğu belirlenmiştir.

İzmir bölgesinden tanımlanan laktik asit bakterilerinin 14 tür kaffas, 9 tür kırgız kefir türüne aittir. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi izole edilen laktik asit bakterilerinin tamamı (%100) gram pozitif, %35’i üreaz negatif, tamamının (%100) katalaz negatif olduğu belirlenmiştir.

Tanımlaması yapılan 50 tür Ankara bölgesine ait laktik asit bakterilerinin 21 türü kaffas, 29 tanesinin kırgız kefir türüne aittir. Çizelge 4.3’te görüldüğü gibi izole edilen laktik asit bakterilerinin tamamı (%100) gram pozitif, %42’si üreaz negatif, tamamı (%100) katalaz negatif olduğu belirlenmiştir.

Oksijene maruz kalma durumunda hidrojen peroksitin indirgenip su ve oksijen oluşumunun meydana gelmesi sonucu katalaz reaksiyonu gerçekleşir. Katalaz enziminin varlığı hücreye antioksidan enzim özelliği kazandırır. Bu sayede bakteri hücresinin

oksidatif strese karşı meydana gelebilecek reaktif oksijen türleriyle baş edebilmesine katkı sağlar. Katalaz aktivitesi (+) olan bakteri hücrelerinde hidrojen peroksit varlığıyla birlikte hücrenin yaşam süresini uzatır.

Katalaz testi izolatların katalaz enzimine sahip olup olmadıklarını belirlemek için yapılır. Yapılan çalışma sonucunda diğer çalışmalardaki gibi laktik asit bakterilerinin katalaz negatif çıkması katalaz enzime sahip olmadıklarını göstermektedir. Katalaz enzimi, hücresel solunum gibi birçok biyokimyasal süreçte ortaya çıkan hidrojen peroksit (H_2O_2) molekülünü su (H_2O) ve oksijen gazı (O_2) moleküllerine dönüştürerek hücreyi koruyan önemli bir enzimdir. Kabarcıkların oluşması, katalaz enziminin aktif olduğunu ve H_2O_2 'yi parçaladığını gösteren net bir kanıttır.

Gram boyama işlemiyle bakterilerin hücre duvarlarının yapısındaki farklılıkların belirlenmesini sağlar. Gram pozitif bakteriler kristal violet boyasını tutarken, gram negatif bakteriler tutamazlar. Bu farklılık, hücre duvarlarının yapısındaki farklılıklardan kaynaklanır. Diğer çalışmalara paralel olarak kefir danelerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin gram boyama sonucunda gram pozitif çıkması bu farklılıktan kaynaklanmaktadır.

Üreaz enzimi varlığı, mikrobiyolojik tanı koymada sıklıkla kullanılan bir testtir. Bu testte, bakteri kültürü özel bir besiyerine ekilir ve ortamda üre olup olmadığına bakılır. 3 farklı bölgeden izole edilen laktik asit bakterilerindeki % üre oranları farklılığı bu gerekçeden kaynaklanmaktadır.

Evren vd. (2011) yaptığı araştırmada laktik asit bakterilerinin gram pozitif, fakültatif anaerob ve katalaz negatif, hareketsiz olarak verilmiştir.

Güney (2023) farklı bölgesel süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin, biyokimyasal özellikleri ve bazı gıda kaynaklı patojenler üzerindeki antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi üzerine yaptığı çalışmada peynir ve tereyağı örneklerinden izole edilen 20 laktik asit bakterisinin çalışmamıza benzer şekilde tamamının (%100) gram pozitif, tamamının (%100) katalaz negatif olduğunu tespit etmiştir.

5.2 Farklı Sıcaklık Değerlerinde Gelişme

Afyonkarahisar bölgesine ait laktik asit bakterilerinin 4 farklı sıcaklıkta gelişimleri Çizelge 4.4’de verilmiştir. 4°C’de gelişme oranının %0, 10°C’de gelişme oranının %100, 37°C’de gelişme oranının %62,5, 45°C’de gelişme oranının %25 olduğu tespit edilmiştir. En yüksek gelişme sıcaklığı %100 oranla 10°C, %62,5 oranla da 37°C olarak belirlenmiştir. Şüpheli laktik asit bakterilerinin, edinilen bilgiler doğrultusunda mezofil ve termofil özellikte olduğu belirlenmiştir.

İzmir bölgesine ait laktik asit bakterilerinin 4 farklı sıcaklıktaki gelişimi Çizelge 4.5’te verilmiştir. En düşük gelişme oranının %18 ile 4°C’de olduğu görülmektedir. 10°C’de gelişme oranını %100, 37°C’de gelişme oranının %100, 45°C’de gelişme oranı ise %27 olarak belirlenmiştir. İzole edilen bakterilerde en fazla gelişme 10°C ve 37°C’de olduğu görülmektedir.

Ankara bölgesi için laktik asit bakterilerinin 4 farklı sıcaklıktaki gelişme özellikleri Çizelge 4.6’da verilmiştir. Diğer bölgelerde de olduğu gibi en düşük gelişme oranı %26 ile 4°C’de görülmüştür. Diğer sıcaklıklar için gelişme oranları 10°C’de %100, 37°C’de %92, 45°C’de %54 olarak belirlenmiştir. Diğer bölgelerden farklı olarak Ankara bölgesi için 45°C’de gelişme oranının daha yüksek olduğu görülmektedir.

Kefir danelerinden izole edilen laktik asit bakterilerin farklı sıcaklıkta gelişme göstermesi bakterilerin enzimatik faaliyetleri üzerindeki etkilerinden kaynaklanmaktadır. Optimal sıcaklık aralığında, bakterilerin enzimleri en yüksek aktiviteye ulaşır. Sıcaklığa göre bakteri grupları 3’e ayrılmaktadır. Her 3 bölgeden de izole edilen laktik asit bakterilerinin optimum gelişme aralığının 10°C ve 37°C olması bu laktik asit bakterilerinin mezofil özellikte olduğunu göstermektedir. Literatür çalışması sonucu elde edilen bilgiler doğrultusunda diğer çalışmalar da çalışmamıza paralellik göstermektedir.

Küçükçuban (2012) yaptığı araştırmada laktik asit bakterilerinin en yüksek gelişme sıcaklığının 5-33°C arasında olduğu ve çalışmamızla paralel sonuç verdiği görülmüştür.

Çalışmamıza paralel olarak Çırpıcı (2024)’nın yaptığı tez çalışmasında kefir mikrobiyotasının belirlenmesi ve elde edilen suşlarla üretilen kefirlerin bazı kalite

parametrelerinin tespiti için 4 sıcaklıkta çalışılmıştır. Çalışma sonucunda genel olarak izolatların büyüme hızları 37°C’de daha yüksek olup, sıcaklık 45°C olduğunda azaldığı görülmüştür.

Çalışmamıza benzer şekilde Aktaş ve Çetin (2024) tarafından yapılan çalışmada, 4°C ve 10°C’de laktik asit bakterilerinin gelişiminin az olduğu görülmüştür.

5.3 Farklı Tuz Değerlerinde Gelişme

Afyonkarahisar bölgesine ait laktik asit bakterilerinin 4 farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme oranları Çizelge 4.7’de verilmiştir. %4 tuz konsantrasyonunda gelişme oranı %82, %6 tuz konsantrasyonunda gelişme oranı %50, %8 tuz konsantrasyonunda gelişme oranı %12,5, %10 tuz konsantrasyonunda gelişme oranı %18,75 olarak belirlenmiştir. Gelişme oranının en fazla %4 tuz içeren besiyerinde olduğu tespit edilmiştir. Bu durum tanımlanan laktik asit bakterilerinin hafif halofilik mikroorganizmalar sınıfında olduğunu göstermektedir.

İzmir bölgesine ait laktik asit bakterilerinin farklı oranlarda tuz içeren besiyerlerinde gelişme yetenekleri Çizelge 4.8’de verilmiştir. %4 tuz derişiminde %92, %6 tuz derişiminde %80, %8 tuz derişiminde %57, %10 tuz derişiminde %18 oranında bakteri gelişim göstermiştir. En yüksek gelişme oranı Afyonkarahisar bölgesinde olduğu gibi %4 tuz konsantrasyonunda olduğu belirlenmiştir. Bu durum da İzmir bölgesine ait laktik asit bakterilerinin de halotolerant özellik gösterdiğini kanıtlamaktadır.

Ankara bölgesine ait laktik asit bakterilerinin farklı oranlarda tuz içeren besiyerlerinde gelişme yetenekleri Çizelge 4.9’da verilmiştir. %4 tuz derişiminde %92, %6 tuz derişiminde %86, %8 tuz derişiminde %20, %10 tuz derişiminde %6 gelişme gözlenmiştir. %10 oranında tuz içeren besiyerinde en düşük gelişme oranının bu bölgede görülmektedir.

Farklı tuz oranlarındaki gelişme farklılıkları tuzun mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkisinden kaynaklanmaktadır. Tuz, bakterilerin su alımını engelleyerek, ozmotik basıncı artırarak, pH’ı değiştirerek ve doğrudan toksik etkileriyle bakteri büyümesini inhibe eder. Bu inhibe etkisi bakterilerin türüne göre değişiklik

göstermektedir. Bazı bakteriler halofilik ortamda gelişme gösterebilir. Bazıları ise antimikrobiyal etkiden kaynaklı daha düşük tuz konsantrasyonlarda gelişme gösterir. Çalışmamızda %4 ve %10 tuz oranlarında gelişme görülmesi laktik asit bakterilerinin hafif halotolerant sınıfından olmasından kaynaklanmaktadır.

Tahtacı ve Kılıç'ın (2015) yaptığı çalışmada laktik asit bakterilerinin %2 ve %5 arasında NaCl tuz içeren ortamda gelişme gösterebileceğine vurgu yapmıştır ve bu laktik asit bakterilerini hafif halotolerant olarak tanımlamıştır.

5.4 Farklı pH Değerlerinde Gelişme

Afyonkarahisar bölgesine ait izole edilen 4 bakteride MRS broth ve M17 brothdaki pH değişimi Çizelge 4.10'da verilmiştir. İzole edilen laktik asit bakterilerinin tamamı (%100) pH:4,5 MRS ve M17 brothta gelişme göstermemiştir. pH: 6,5 ve pH:9,8 MRS brothlara inoküle edilen bakterilerin tamamında (%100) gelişim gözlemlenmiştir. M17 brothda gelişme gözlemlenmemiştir.

Varyasyon analiz sonuçlarına göre; Çizelge 4.11'de görüldüğü gibi Afyon bölgesi Kırgız kefir türü için laktik asit bakterileri için sonuç üzerinde bakteri çeşidi, pH değişimi ve bakteri x pH değişimleri etkileşimlerinin tamamı çok fazla anlamlıdır ($p<0,0001$). pH değişimi ise bakteri gelişimi üzerinde 0.01 seviyesinde pozitif yönlü ($r:0,638$) kolerasyon etki gösterdiği belirlenmiştir. Yani bakteri çeşitliliğinin sonuç üzerinde negatif yönlü ($r:-0,104$) korelatif etki göstermektedir.

Varyasyon analiz sonuçlarına göre; Çizelge 4.12'de görüldüğü gibi Afyon bölgesi Kafkas kefir türü için laktik asit bakterileri için bakteri gelişimi üzerinde bakteri çeşidi, pH değişimi ve bakteri x pH değişimleri etkileşimleri çok fazla anlamlıdır ($p<0,0001$). Kırgız kefir türüne benzer olarak pH değişiminin bakteri gelişimi üzerinde 0.01 seviyesinde pozitif yönlü ($r:0,619$) kolerasyon etki gösterdiği belirlenmiştir. Çizelge 4.12'de görüldüğü gibi bakteri çeşidi bakteri gelişimi üzerinde negatif yönlü ($r:-0,04$) korelatif etki göstermektedir.

İzmir bölgesinden temin edilen kefir danelerinde izole edilen bakterilerin pH değişimi Çizelge 4.13'de verilmiştir. İzmir bölgesinden izole edilen 23 laktik asit bakterisinin

tamamı (%100) pH:4,5 MRS broth ve M17 brothda gelişme göstermiştir. pH:6,5 MRS ve M17 brotha inoküle edilen laktik asit bakterilerinin tamamı (%100) besiyerinde gelişme göstermiştir. pH:9,8 için ise MRS ve M17 brothda bakterilerin tamamının (%100) gelişme gösterdiği gözlemlenmiştir. Yapılan araştırmalara kıyas yapıldığında laktik asit bakterilerinin gelişebildiği pH aralığı 5,0 – 6,0 olarak bulunmuştur (Güney 2023).

Varyasyon analiz sonuçlarına göre; Çizelge 4.14’de ve Çizelge 4.15’te görüldüğü gibi İzmir bölgesi Kırgız kefir türü için ve Kafkas kefir türü için laktik asit bakterileri için bakteri gelişimi üzerinde bakteri çeşidi, pH değişimi, ve bakteri x pH değişimleri etkileşimlerinin tamamı çok fazla anlamlıdır ($p<0,0001$). Korelasyon analizinde ise pH değişimi ve bakteri çeşitliliği sonuç üzerinde 0.01 seviyesinde çok fazla pozitif (Kafkas; $r:0,380$ -Kırgız; $r:0,578$) etki göstermiştir. Bu durum pH düşmesiyle sonucun da düştüğünü, artmasıyla ise sonucunda arttığını gösterir. Her iki kefir türü için de bakteri çeşitliliğinin bakteri gelişimi üzerinde pozitif etkisi olduğunu belirlenirken Kafkas kefir türü için sonuç üzerinde Kırgız kefir türünden daha yüksek oranda etki gösterdiği gözlemlenmektedir. pH değişiminin ise her iki kefir türü için eşit oranlarda etki gösterdiği belirlenmiştir.

Ankara bölgesi için 50 adet laktik asit bakterisi izole edilmiş olup veriler Çizelge 4.16’da verilmiştir. 50 laktik asit bakterisinin tamamının (%100) inkübasyonu sonucunda başlangıç pH 4,5 olan MRS brothlarda pH değeri değişmemiştir. MRS broth pH:6,5 olan MRS brothlara inoküle edilen laktik asit bakterilerinin (%16) az gelişme göstermiştir. Besiyeri ortamı pH9,8 olan MRS brothlara inoküle edilen laktik asit bakterilerinin tamamı (%100) gelişme gösterip pH seviyesini düşürmüştür.

Yapılan varyasyon analiz sonuçlarına göre; Çizelge 4.17’de ve Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi Ankara bölgesi Kırgız kefir türü ve Kafkas kefir için laktik asit bakterileri için bakteri gelişimi üzerinde bakteri farklılığı ve pH değişiminin çok fazla anlamlı olduğu görülmektedir. Ayrıca bakteri*pH değişimi etkileşimlerinin çok fazla anlamlı olduğu görülmektedir ($p<0.0001$). Korelasyon analiz sonuçlarına göre her iki kefir türü için de pH değişimi sonuç üzerinde 0.01 seviyesinde pozitif (Kafkas; $r:0,476$ - Kırgız; $r:0,601$) yönlü çok fazla olumlu etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu pozitif yönlü etkinin Kırgız kefir türü için daha fazla olduğu belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre her iki kefir türü için de bakteri çeşitliliğinin sonuç üzerinde etki göstermediği belirlenmiştir.

Küçükçuban'ın (2012) yaptığı çalışmada laktik asit bakterilerinin gelişmesi için gereken pH değerinin 5,5 ve 5,8 arasında olduğu bildirilmiştir.

Shaheen vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada 14 laktik asit bakterisinden sadece beş tanesinin pH 3'te gelişim gösterdiği saptanmıştır. Bu farklılığın izole edilen laktik asit bakteri türlerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çırpıcı (2024) yapmış olduğu çalışmada izole edilen 51 laktik asit bakteri izolatının simüle mide sıvısında gelişimini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda bakterilerin %60,71'sinin mide asitliğini tolere edemediğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda da benzer şekilde Afyonkarahisar ve Ankara bölgelerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin tamamı pH:4.5' te gelişme göstermemiştir.

5.5 Farklı Şeker Türlerinde Fermantasyonları

Yapılan çalışma için 9 farklı şeker türü (fruktoz, sükroz, maltoz, galaktoz, glikoz, mannitol, ksiloz, laktoz, sorbitol) kullanılmıştır. Şekerlerin MRS ve M17 brothdaki pH değerleri inkübasyon öncesi ve sonrası olarak ayrı ayrı ölçülüp kaydedilmiştir.

Araştırmalar sonucunda inkübasyon öncesi ve sonrasındaki pH değişimleri Çizelge 4.19, Çizelge 4.20 ve Çizelge 4.21'de verilmiştir.

Afyonkarahisar bölgesi için fruktoz %18,75 oranında, sükroz için %50 oranında, maltoz için %37,5, galaktoz şekerinde %62,5, glikoz şekerinde %31,25, mannitolda %25, ksilozda %18,75, laktozta %18,75, sorbitolda %43,75 oranında gaz oluşumu gözlemlenmiştir. Bulanıklık oluşumları ise fruktoz şekeri için %18,75 oranında, sükroz için %62,5 oranında, maltoz için %43,75, galaktoz şekerinde %6,25, glikoz şekerinde %37,5, mannitolda %50, ksilozda %0, laktozta %25, sorbitolda %87,25 oranındadır (Şekil 4.10 – Şekil 4.27 arası). Ksiloz şekerinde bulanıklığın %0 olmasının sebebi ksilozu fermente edememesidir.

İzmir bölgesinden izole edilen kefir danalerindeki laktik asit bakteri için hiçbir şeker türünde gaz oluşturmadığı Çizelge 4.20'de görülmektedir. Gaz oluşumu bu bölge için %0'dır. Şeker fermantasyonunda bulanıklık oranlarının ise fruktozta %69,56 oranında,

sükrozda %95,65 oranında, maltozda %60,86 oranında, galaktozda %86,95 oranında, glikozda %82,60 oranında, mannitolda %100 oranında, ksilozda %47,82 oranında, laktozda %86,95 oranında ve sorbitolda %65,21 oranında olduğu görülmektedir. (Çizelge 4.20). Şeker fermentasyonlarındaki gaz oluşumu yüzdelerindeki farklılığın nedeni, homofermantatif *Lactobacillus* türleri heksoz şekerlerden başlıca laktik asit üretirken, pentoz şekerler ve glukonatları fermente edemezler.

Ankara bölgesi için gaz oluşum yüzdeleri şekerlerde şu oranlardadır; fruktozda %0, sükrozda %0, maltozda %5, galaktozda %10, glikozda %12, mannitolda %12, ksilozda %4, laktozda %0, sorbitolde %12'dir. Fruktoz, sükroz ve laktozda gaz oluşumu yüzdelerinin %0 olma sebebi bu şekerleri fermente edememesidir.

Küçükçuban'ın (2012) yaptığı araştırmada, laktik asit bakterilerinin birçoğu enerjisini sadece şeker metabolizmasının kazandığı için laktik asit bakterilerinin şeker içerdiği belirtilmiştir. Bu bakterilerin en belirgin özelliği biyosentetik yeteneklerinin sınırlı olmasıdır. Amino asitler, pirimidinler, pürinler ve vitaminler ihtiyaç duydukları besin maddeleri arasındadır. Laktik asit bakterilerinde ayırt edilebilen 4 bakteri sınıfı vardır; *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* ve *Pediococcus*.

5.6 Farklı Şeker Türlerinde Gaz Oluşumu ve Bulanıklık

Afyonkarahisar bölgesine ait kefir danelerinden izole edilen bakterilerin gaz oluşumu ve bulanıklık sonuçları Çizelge 4.23'te verilmiştir. 4 farklı laktik asit bakterisi için en fazla gaz oluşumu gözlemlenen şeker türü 10 bakteri ile galaktoz, en az gaz oluşumu ise 3 bakteri ile fruktoz, mannitol ve laktoz şekerlerinde meydana geldiği belirlenmiştir. Tüm şekerler göz önünde bulundurulduğunda 9 şeker türü için %62 oranında gaz oluşumu gözlenmiştir. Bu durum da yapılan araştırmalar neticesinde izole edilen laktik asit bakterilerinin %62'sinin heterofermantatif %38'inin homofermantatif olduğu belirlenmiştir.

İzmir bölgesi için 25 laktik asit bakterisinin gaz oluşumu ve bulanıklık durumları Çizelge 4.24'te de görüldüğü üzere bakterilerin tamamı (%100) hiçbir şeker türünde gaz oluşturmamıştır. Bu durum izole edilen laktik asit bakterilerinin hepsinin de homofermantatif olduğunu göstermektedir.

Ankara bölgesi için 50 adet laktik asit bakterisin gaz oluşumu ve bulanıklık tespiti yapılmıştır, Çizelge 4.25’de verilmiştir. En fazla gaz oluşumu gözlenen şeker türleri 6 bakteri ile mannitol, sorbitol ve glikoz olmuştur. 9 şeker için tüm bakterilerin gaz oluşumu %6 oranındadır. Yani Ankara bölgesinin kefir danelerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin %6’sının heterofermantatif olduğu tespit edilmiştir.

Küçükçuban’ın (2012) yaptığı araştırmada, homofermantatif laktobasil olan türlerin heksozların çoğunu bakteriler tarafından laktik aside fermente ettiği bilgisine ulaşılmıştır. Buna ek olarak glukoz ve glukonattan gaz oluşturmadaıkları bildirilmiştir.

Güney (2023) yaptığı çalışmada izole edilen 20 laktik asit bakterisinin %23 ünün homofermantatif olduğunu tespit etmiştir.

Arslan (2017) yaptığı çalışmada konu şu şekilde özetlenmiştir; Gaz üreten LAB, heterofermantatiftir ve laktik asit yanında etanol, asetik asit ve formik asit gibi yan ürünler de üretir. Gaz üretmeyen LAB, homofermantatiftir ve sadece laktik asit üretmektedir.

Bennani vd. (2017) *Lc. lactis* izolatlarının çoğunun homofermantatif olup gaz oluşturmadağını belirtmiştir. Çalışmamızda da bakterin daha çok homofermantatif olduğu bulunmuştur.

Çırpıcı’nın yaptığı araştırmada (2024) kefir mikrobiyotasının belirlenmesi ve elde edilen suşlarla üretilen kefirlerin bazı kalite parametrelerinin tespiti üzerine çalışılmıştır. İzolatların homofermantatif ya da heterofermantatif karakterlerinin, gaz (CO₂) üretmesiyle belirlendiği ifade edilmiştir. Gaz oluşumu hava kabarcıklarının meydana gelmesiyle oluşup, gaz oluşturan bakteriler heterofermantatif, diğerleri ise homofermantatif sınıfta ele alınır. Yapılan çalışmada *Lc. lactis* izolatlarında büyük oranda gaz oluşturmadağı dolayısıyla *Lc. lactis* suşlarının çoğunluğunun homofermantatif olduğu saptanmıştır. Bazı türlerinin ise diğerlerinin aksine heterofermantatif özellikte olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni ise heterofermantatif metabolizma için ihtiyaç olan ve pentozların parçalanmasında etkili olan fosfoketolaz enzimine ait gene sahip olunmasıdır.

5.7 Kefir Danesinden İdentifiye Edilen Laktik Asit Bakterileri

Bu çalışmamızda kefir danelerinden Afyonkarahisar bölgesinde 2 Kafkas 2 Kırgız olmak üzere 4 tür, İzmir bölgesi için 14 Kafkas 9 Kırgız olmak üzere 23 tür, Ankara bölgesi için 21 Kafkas 29 Kırgız olmak üzere 50 tür izole edilmiştir.

Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen laktik asit bakterilerinin %50 oranında *Lactobacillus* spp. cinsi, %43,75 oranında *Streptococcus* spp cinsi, %6,25 oranında *Lactococcus* spp. cinsi olduğu görülmektedir. Ankara bölgesi için bu oranların ve laktik asit bakterilerinin %86 *Lactobacillus* spp. cinsi, %6 *Lactococcus* spp cinsi, %6 *Streptococcus* spp. cinsi, %2 *Leuconostoc* spp cinsi oranlarında olduğu görülmektedir. İzmir bölgesi için %69,57 oranında *Lactobacillus* spp cinsi, %17,39 oranında *Streptococcus* spp cinsi, %8,70 oranında *Leuconostoc* spp. cinsi, %4,35 oranında *Bifidobacterium* spp. cinsi izole edilmiştir. Afyon bölgesi için en fazla izole edilen laktik asit bakterisi %50 oranıyla *Lactobacillus* spp. cinsi, türü Ankara bölgesi için en fazla izole edilen laktik asit bakterisi %86 oranıyla *Lactobacillus* spp. cinsi türü, İzmir bölgesi için en fazla izole edilen laktik asit bakterisi ise %69,57 oranıyla yine *Lactobacillus* spp. cinsi olmuştur.

Evren vd. (2011) yaptığı çalışmada kefirde bulunan laktik asitler şu şekilde verilmiştir; *L. bulgaricus*, *Streptococcus lactis*, *S. avium*, *S. durans* *L. cellobiosis* *S. cremoris*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefirgranum*, *Lactobacillus parakefir*, *L.brevis*, *L. plantarum*, *L. helveticus*, *L. viridescens*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L.rhamnusus*, , *L. paracasei*, *L. fructivorans*, *L. hilgardi*, *L. casei*, *L. fermentum*, , *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc* sp., *Leuconostoc mesenteroides*.

Çırpıcı (2024) gerçekleştirmiş olduğu çalışmada kefir danesinde bulunan *Lactobacillus* türlerinin; *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens* subsp. *kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefiranofaciens* subsp. *kefirgranum*, *Lactobacillus parakefiri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus amylolyticus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus cellobiosis*, *Lactobacillus citreum*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* olduğunu bildirmişlerdir.

Yılmaz vd. (2012) yaptıkları araştırmada kefirde bulunan *Lactococ* türlerinin; *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus chungangensis*, *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* olarak bulmuştur.

Bourrie vd. (2016) bir çalışmalarında kefir örneklerinde içerdiği *Leuconostoclar* *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* olarak bildirmişlerdir.

Yapılan benzer çalışmalardaki kefir danelerinden izole edilen laktik bakterileri yüksek oranda benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda izole edilen laktik asit bakterileri şunlardır; *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus amylolyticus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus cellobiosis*, *Lactobacillus citreum*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus hilgardi*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranoferiens*, *Lactobacillus kefirgranum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus parakefir*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnusus*, *Lactobacillus viridescens*, *Lactococcus chungangensis*, *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *Diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* *Leuconostoc* spp. *Streptococcus avium*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus durans*, *Streptococcus kefir*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*.

Çalışmamızla ortak bakteriler bulunmakla birlikte farklı bakterilerin de saptanmasının sebebinin bölgesel farklılık, kullanılan sütün çeşidi, dane üretiminde kullanılan üretim teknolojileri ile üretim sırasındaki fermantasyon sıcaklığı ve fermantasyon süresinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bunlara ek olarak endüstriyel ortamda üretilen kefirlerde fabrikalardaki proses süreci, geleneksel yolla üretimi sağlanan kefirlerin kontaminasyon ihtimali, izolasyon sürecindeki çalışma koşullarının farklılığı da bu konuda yapılan çalışmalardaki farklılıklara neden olabilmektedir.

6 SONUÇ

Laktik asit bakterilerinde yapılan tanımlamanın temeli sınıflandırmaya dayanmaktadır. Sınıflandırmanın temelinde ise morfolojik, fizyolojik ve farklı sıcaklık, farklı tuz, farklı pH yoğunluğu gibi biyokimyasal özelliklerin incelenmesini gerekli kılan fenotipik özellikler mevcuttur.

Bu çalışmada da Afyonkarahisar, Ankara ve İzmir bölgelerinden temin edilen kefir danelerinden toplam olarak 77 laktik asit bakterisi türü izole edilmiştir.

Laktik asit bakterilerinin tanımlanması için farklı sıcaklık, pH, tuz konsantrasyonu ve farklı şeker fermentasyonlarında gerekli inkübasyon koşullarıyla beraber gelişimleri gözlenmiştir. Bunlarla beraber gram pozitif, katalaz aktivitesi ve üreaz aktivitesi incelenmiştir.

Yapılan çalışmalar neticesinde 3 farklı bölgeden 2 farklı kefir türünden izole edilen laktik asit bakterilerinin tamamının gram pozitif ve katalaz negatif olduğu görülmüştür. Üreaz aktivitesi bölgeler arasında farklılık gösterirken Afyon bölgesinde %6, İzmir bölgesinde %65, Ankara bölgesinde %58 oranında katalaz aktivitesi belirlenmiştir.

Kefir danelerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin Afyon bölgesi için gelişme yüzdeleri şu şekildedir; 4°C'de %0, 10°C'de %100, 37°C'de %62, 45°C'de %25 oranında gelişme göstermektedirler. İzmir bölgesi için 4 farklı sıcaklıkta gelişme yüzdeleri 4°C'de %14, 10°C'de %96, 37°C'de %100, 45°C'de %26 şeklindedir. Ankara bölgesi için gelişme yüzdeleri 4°C'de %26, 10°C'de %100, 37°C'de %92, 45°C'de %54 oranlarındadır. Genel olarak bakıldığında ise 4°C'de %17, 10°C'de %96, 37°C'de %100, 45°C'de %26 oranında gelişme olduğu görülmektedir.

4 farklı sıcaklıkta gelişimi gözlemlenen laktik asit bakterilerinin en fazla gelişim oranının olduğu sıcaklık 10°C, daha sonra da 37°C'dir. Bu durum laktik asit bakterilerinin büyük çoğunluğunun mezofilik olduğunu gösterir.

İzolasyon için yapılan çalışmalardan bir diğeri de farklı konsantrasyonlardaki tuz oranlarıdır. Afyon bölgesi için %4 tuz oranında gelişme yüzdesi %81, %6 tuz oranında

gelişme yüzdesi %50, %8 tuz oranında gelişme yüzdesi %12, %10 tuz oranında gelişme yüzdesi %19 olarak hesaplanmıştır. İzmir bölgesi için bu rakamlar %4 tuz oranında %96, %6 tuz oranında gelişme yüzdesi %78, %8 tuz oranında gelişme yüzdesi %57, %10 tuz oranında gelişme yüzdesi %22 şeklindedir. Ankara bölgesi için de %4, %6, %8, %10 tuz oranlarında gelişme yüzdesi sırasıyla %94, %86, %20, %6'dır. Genel olarak bakıldığında %4 tuz konsantrasyonunda %92, %6 tuz konsantrasyonunda %78, %8 tuz konsantrasyonunda %28, %10 tuz konsantrasyonunda %12 gelişim gözlemlenmiştir.

4 farklı tuz konsantrasyonu için maksimum gelişme oranı %4 tuz derişiminde meydana gelmektedir. %4 tuz konsantrasyonu, izole edilen laktik asit bakterilerinin orta halofilik laktik asit bakterileri olduğunu göstermektedir.

Kefir danesindeki pH değerlerinde her 3 bölge, her 2 kefir türü için de pH:4,5, pH:6,5, pH:9,8 değerinde azalma göstermektedir. Probiyotik fermente süt ürünlerinin başında gelen kefirdeki starter laktik asit bakterilerindeki bu pH düşüşüyle bazı metabolitlerin meydana gelmesi ve bununla beraber laktik asidin pH düşüşüyle beraber istenmeyen mikroorganizmaların çoğalması engellenmiştir. Üründeki talep edilen koku, tat ve ürün kalitesi de sağlanmaktadır.

Şeker fermentasyonu sonucunda şekerlerde görülen gaz oluşumu yüzdeleri genel olarak fruktozda %3, sükrozda %9, maltozda %9, galaktozda %17, glikozda %12, mannitolda %11, ksilozda %6, laktozda %3, sorbitolde %15 oranındadır. Gaz oluşumu laktik asit bakterilerinin heterofermantatif olduğunu göstermektedir.

Bulanıklık oranlarının ise 3 bölgede toplam olarak fruktoz için %52, sükroz için %39, maltoz için %55, galaktoz için %24, glikoz için %53, mannitol için %42, ksiloz için %30, laktoz için %54, sorbitol için %42 olarak belirlenmiştir. Bulanıklık oluşması şekerlerin laktik asit bakterileri tarafından fermente edildiğinin kanıtıdır.

9 şeker türündeki 3 bölge için gaz oluşumu verileri incelendiğinde tüm izolatların %9'unda gaz oluşumu görülürken %91 oranında gaz oluşumu gözlenmediği belirlenmiştir. Bu durum laktik asit bakterilerinin %9'unun heterofermantatif özellikte olduğu belirlenmiştir. %91 oranında gaz oluşumu görülmemesinin nedeni izolatların

heterofermentatif özellikte olması için gerekli olan ve pentozların yıkımını sağlayan fosfoketolaz enzimine sahip olmamasıdır.

Çalışmamızda izole edilen laktik asit bakterileri şunlardır;

%1,12 oranında *Lactobacillus kefirgranum*, *Lactobacillus hilgardi*, *Leuconostoc lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus hilgardi*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus rhamnusus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactococcus chungangensis*, *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus rhamnusus*, *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *Diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc* spp., *Streptococcus avium*, *Streptococcus kefir*, *Streptococcus lactis* bakterileri;

%2,24 oranında *Lactobacillus amylolyticus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus cellobiosis*, *Lactobacillus citreum*, *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus durans* bakterileri;

%3,37 oranında *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus kefiranoferiens*, *Lactobacillus parakefir* bakterileri;

%4,49 oranında *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus cremoris* bakterileri;

%5,61 oranında *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus viridescens*, *Streptococcus thermophilus* bakterileri izole edilmiştir.

Afyonkarahisar bölgesinden izole edilen laktik asit bakterilerinin %50 oranında *Lactobacillus* spp. cinsi, %43,75 oranında *Streptococcus* spp cinsi, %6,25 oranında *Lactococcus* spp. cinsi olduğu görülmektedir. Ankara bölgesi için bu oranların ve laktik asit bakterilerinin %86 *Lactobacillus* spp. cinsi, %6 *Lactococcus* spp cinsi, %6 *Streptococcus* spp. cinsi, %2 *Leuconostoc* spp cinsi oranlarında olduğu görülmektedir. İzmir bölgesi için %69,57 oranında *Lactobacillus* spp cinsi, %17,39 oranında *Streptococcus* spp cinsi, %8,70 oranında *Leuconostoc* spp. cinsi, %4,35 oranında *Bifidobacterium* spp. cinsi izole edilmiştir. Afyon bölgesi için en fazla izole edilen laktik asit bakterisi %50 oranıyla *Lactobacillus* spp. cinsi, türü Ankara bölgesi için en fazla izole edilen laktik asit bakterisi %86 oranıyla *Lactobacillus* spp. cinsi türü, İzmir bölgesi için en fazla izole edilen laktik asit bakterisi ise %69,57 oranıyla yine *Lactobacillus* spp. cinsi olmuştur.

Yapılan çalışmada laktik asit bakterilerinin geliştiği pH aralığı, sıcaklık, tuz aralığı ve şeker fermentasyonları incelenmiştir. Kefir danesi için laktik asit bakterileri fermentasyonda önemli bir rol oynadığı için süt endüstrisinde de laktik asit bakterilerinin varlığını koruması için gerekli ortam koşulları, sıcaklık ve pH koşullarının sağlanması gerekmektedir. Bu tez çalışmasında da bunun gibi gerekçelerle süt endüstrisine katkı sağlanmaktadır. Gıda üretim sürecinin her aşaması, tüketici sağlığı için son derece kritiktir. Ambalajlama, depolama ve transfer süreçlerindeki hijyen, sıcaklık ve pH kontrolü, gıda güvenliği için olmazsa olmazdır. Tüm gerekli koşullar sağlandığında da dikkat edilmesi gereken bir diğer nokta hijyendir; prosesin her aşamasında endüstriyel ya da geleneksel kefir üretimininde kontaminasyonun en aza indirilmesi amaçlanmalıdır. Kefir danesi patojen mikroorganizmalarla bulaşı ihtimaline oldukça açıktır, bu nedenle süt endüstrisinde starter kültür kullanımı kefir üretimi için daha güvenilir olduğu öngörülmektedir.

7 KAYNAKÇA

- Adiguzel G, Gulluce M, Bozoglu C, Yanmis, D, Gormez A, Atasever M and Adiguzel, A, 2012, Molecular characterization of Escherichia coli O157: H7 from retail beef in Erzurum, Turkey. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 6(3), 1033-1041.
- Akarca G, Çağlar A, Tomar O, 2017, Kefir ve Sağlık Açısından Önemi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17(2), 834-853.
- Aktaş B, 2010, Shelf-life of Probiotics, The University of Wisconsin-Madison, Master of Science, 91p, Madison.
- Aktaş, H. and Çetin, B. 2024. Multidimensional evaluation of techno-functional properties of yoghurt bacteria, *International Dairy Journal*, 148, 105795.
- Al M, 2018, Farklı pH Değerlerindeki Dondurma Mikslerinin ve Dondurma Üretim Yöntemlerinin Kefir Dondurmasının Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 88s, Antalya.
- Aliyev C, ve Dervişoğlu, M, 2006, Kefir and blueberry on the physicochemical, sensory and microbiological properties of ice cream, *Journal of Dairy Science*, 89(11), 4421-4426.
- Anonim, 2022, Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, Sayı:32029, Tebliğ No: 2022/44
- Arda B, 2020, İnek ve Koyun Sütünden Dane veya Kültür Kullanılarak Üretilen Kefirlerin Yağ Asidi Profili, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 83s, İzmir.
- Arda M, 2000. Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayın Serisi No: 46: 548s.
- Arslan S, 2017, Türkiye'nin Farklı Yörelerinden Toplanan Beyaz Peynir Örneklerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Moleküler Karakterizasyonu, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 104s, Erzurum.
- Ataman A, 2020, Laktozlu ve Laktozsuz Sütten Kefir Danesi İlavesiyle Üretilen Kefirlere Çilek Püresi Katılarak Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Özelliklerinin

- Araştırılması, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 75s, Sakarya.
- Ateş, K , 2019, Tarhana Örneklerinden Laktik Asit Bakterilerin İzolasyonu Ve Bazı Probiyotik Özelliklerinin Karakterizasyonu, İstanbul Aydın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 66s, İstanbul.
- Atılğan S, 2018, Kefir Danesi ve Kefir Starter Kültürü ile Üretilen Kefirlerin in Vivo Olarak Probiyotik Potansiyellerinin qPCR İle Belirlenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 71s, Isparta.
- Bakacak Ö, 2024, Probiyotikler ve bir adım ötesi: Postbiyotikler, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 206s, İstanbul.
- Bayram S E, Özeker E, Elmacı Ö L, 2013, Fonksiyonel Gıdalar ve Çilek, Akademik Gıda, 11(2), 131-137.
- Bennani S, Mchiouer K, Rokni Y. and Meziane M, 2017, Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from Moroccan raw cow's milk, Journal of Materials and Environmental Science, 8, 4934-4944.
- Biçer D, Dal G, Eminoglu D Ö, 2022, Probiyotikler ve Periodontal Sağlık, Selçuk Dental Journal, 9(2), 706-712.
- Bourrie B C, Willing B P and Cotter P D, 2016, The Microbiota and Health Promoting Characteristics of the Fermented Beverage Kefir, Frontiers in Microbiology, 7 647.
- Bozacı C P, 2018, Molecular Characterization of The Predominant Lactic Acid Bacteria and Yeasts In The Sourdough And Chickpea Fermentations and Investigation of Some Lactic Acid Bacteria for Potential Starter Culture Usage, Çukurova University, Institute of Natural and Applied Sciences, PhD Thesis, 317s, Adana.
- Çırpıcı B B, 2024, Kefir Mikrobiyotasının Belirlenmesi ve Elde Edilen Suşlarla Üretilen Kefirlerin Bazı Kalite Parametrelerinin Tespiti, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tez, 218 s, Erzurum.
- Denizkara A, 2021, Geleneksel Afyonkarahisar ekmeği üretiminde kullanılan hamurların fizikokimyasal özellikleri ile hamur fermantasyonunda rol alan mayaların izolasyon ve tanımlanması, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 99s, Afyonkarahisar.

- Dinç, A, 2008, Kefirin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 59s, Ankara.
- Erdem A, 2009, Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliklerinin İncelenmesi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 48s, İstanbul
- Eriççi Ş Y, 2004, Fermente Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, Tanımlanması ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 92s, Eskişehir.
- Evren M, Apan M, Tutkun E, Evren S, 2011, Geleneksel fermente gıdalarda bulunan laktik asit bakterileri. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi, 9(1), 11-17.
- Facklam R R, Sahm D S, Teixeira L M, 2002, Standart Laboratory Methods for Identifying and Growing Enterococci. Manual of Clinical Microbiology, ASM Press.
- Georgalaki M, Zoumpopoulou G, Anastasiou R, Kazou M, Tsakalidou E, 2021, *Lactobacillus kefiranofaciens*: From Isolation and Taxonomy to Probiotic Properties and Applications, Microorganisms, 9(10), 2158.
- Ghorbal A K, 2023, Production of Orange Juice Like Functional Drink Using Lactic Acid Bacteria, Çukurova University, Institute of Natural and Applied Sciences, Ph.D Thesis, 108p, Adana.
- Güney İ, 2023, Farklı bölgesel süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin, biyokimyasal özellikleri ve bazı gıda kaynaklı patojenler üzerindeki antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 71s, Afyonkarahisar.
- Güren S, 2024, Sığır Karkaslarından İzole Edilen Gıda Kaynaklı Patojen Bakterilerin, Fizyolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinde Mevsimsel Değişimlerin Etkisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 165s, Afyon.
- Halkman A K, 2005, Gıda Mikrobiyoloji Uygulamaları, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri, Ankara.
- Harley J P, Prescott L M, 2002, Laboratory Exercises in Microbiology, Fifth Edition New York: The McGraw–Hill Companies, 466p.

- Huggett, A. C, Verschuren, P. M, 1996, The safety assurance of functional foods, *Nutrition reviews*, 54(11), S132.
- İşleroğlu H, Yıldırım Z, Yıldırım M, 2008, Yöresel Peynirden Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakterisinin İzolasyonu ve Tanısı, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(1), 1-6.
- Karagöl M A, 2017, Koyun ve İnek Sütlerinden Üretilen Karın Kaymağı Peynirinin Olgunlaştırılmasıyla Meydana Gelen Değişikliklerin Araştırılması, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 86s, Ordu.
- Kaya M, 2015, Sinbiyotik Yoğurt Üretimi ve Reolojik, Fonksiyonel ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 81s, İstanbul.
- Kıran F, Osmanağaoğlu Ö, 2011, Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) İdentifikasyonunda/Tiplendirmesinde Kullanılan Moleküler Yöntemler, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 27(1), 62-74.
- Küçükçuban A, 2012, Sıvı Ekşi Hamur Sistemi için Uygun Laktik Asit Bakteri Kombinasyonunun Belirlenmesi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Yüksek Lisans Tezi, 85s, Denizli.
- Pérez-Sánchez, T, Ruiz-Zarzuela, I, de Blas, I., ve Balcázar, J L, 2012, Probiotics in aquaculture: a current assessment. *Reviews in Aquaculture*, 6(3), 133-146.
- Sevgili A, 2023, Identification of Lactic Acid Bacteria and Yeasts from Turkish Sourdoughs and Selection of Starter Cultures For Sourdough Bread, Gaziantep University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ph.D. Thesis, 135s, Gaziantep.
- Sevgili A, Erkmen O, Koçaslan S, 2021, Identification of lactic acid bacteria and yeasts from traditional sourdoughs and sourdough production by enrichment, *Czech Journal of Food Sciences*, 39, 312 – 318.
- Sezer Ç, 2003, Kefirde Laktik Asit Bakterilerinin Tür Düzeyinde Araştırılması, Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 85s, Kars.
- Shaheen A, El-Baghdady K Z and Zakaria A, 2019, Isolation and Identification of Potent Probiotics with High Lead Removal Capability, *Egyptian Journal of Botany*, 59 (1), 95- 105.

- Şahin Ö, 2023, Piyasada Satılan Endüstriyel Kefirlerin Ev Yapımı Kefir Üretiminde Kullanılabilirliğinin Araştırılması, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 74s, Bolu.
- Şeremet K, Khatabı A, Dakheel J M, Filik G, 2023, Heterofermantatif Laktik Asit Bakterilerinin Silaj Katkı Maddesi Olarak Kullanılması, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 1(1), 38-43.
- Şimşek Ö, 2003, Uşak ve Yöresi Ekşi Hamurlarından İzole Edilen Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Bazı Metabolik Özelliklerinin Belirlenmesi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 100s, Denizli.
- Tahtacı S, Kılıç G B, 2015, Halofilik Laktik Asit Bakterileri ve Gıda Sanayisinde Kullanım Alanları, Gıda, 40(6), 349-356.
- Takizawa, S, Kojima S, Tamura S, Fujinaga S, Benno, Y., and Nakase T, 1994, *Lactobacillus kefirgranum* sp. nov. and *Lactobacillus parakefir* sp. nov., two new species from kefir grains. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 44(3), 435-439.
- Tan K, Ertekin Ö, 2017, Yerli ineklerden elde edilen sütlerden üretilen kefirin pH ve laktik asit bakteri değerleri, Bilim ve Gençlik Dergisi, 5(2), 155-159.
- Tassou C C, Panagou E Z, Katsaboxakis 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.
- Taş T, 2010, Kontrollü Atmosfer Uygulamasının Kefir Danesi ve Kefir Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 122s, Isparta.
- Uslu N, Yetişemeyen M, 2010, Ankara Bölgesi'nde Satışa Sunulan Kefirlerin Mikrobiyolojik, Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi, Gıda Teknolojisi Dergisi, 11(2), 189-196.
- Ünal F G, 2013, Kuru Madde Oranları Farklı Sütlerden Starter Kültür ve Dane ile Üretilen Set Tipi Kefirlerin Duyusal, Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 64s, Antalya.

- Vuyst, L D, Avonts, L, Makras, L, 2004, Probiotics, prebiotics and gut health. Functional foods, ageing and degenerative disease, 416-482.
- Yılmaz B, Sharma H, Melekoglu E and Ozogul F, 2022, Recent developments in dairy kefir-derived lactic acid bacteria and their health benefits, Food Bioscience, 46, 101592.
- Yiğit M B, 2023, Determination of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Food Products, Abdullah Gul University, The Department Of Bioengineering And The Graduate School Of Engineering And Science, Master of Science, 81p, Kayseri.
- Yörük G N, Güner A, 2011, Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması ve *Weissella* Türlerinin Gıda Mikrobiyolojisinde Önemi, Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 6(2), 163-176.