

**BAZI PROBİYOTİK BAKTERİLERİN DONDURMA
ÜRETİMİNDE KULLANIM İMKANLARI**

Tamer TURGUT

**Doktora Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Prof. Dr. Songül ÇAKMAKÇI
2006
Her hakkı saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**BAZI PROBİYOTİK BAKTERİLERİN DONDURMA
ÜRETİMİNDE KULLANIM İMKANLARI**

Tamer TURGUT

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ERZURUM

2006

Her hakkı saklıdır

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	35
3. MATERYAL ve YÖNTEM	41
3.1. Materyal.....	41
3.1.1. Dondurma üretiminde kullanılan süt ve krema.....	41
3.1.2. Probiyotik kültürler.....	41
3.1.3. Yağsız süttozu, şeker ve vanilya.....	41
3.1.4. Karagenan, guar gum ve locust bean gum (keçi boynuzu sakızı).....	41
3.1.5. Dondurmaların ambalajlanmasında kullanılan kaplar.....	42
3.2. Yöntem.....	42
3.2.1. Deneme düzeni.....	42
3.2.2. Probiyotik dondurmaların üretimi.....	43
3.2.2.a. Dondurma mikslерinin hazırlanması	43
3.2.2.b. Fermente sütlerin hazırlanması.....	43
3.2.2.c. Dondurmaların üretimi	44
3.2.3. Örnek alma ve örnekleri analize hazırlama	45
3.2.4. Dondurma üretiminde kullanılan süt ve kremada yapılan analizler.....	45
3.2.5. Dondurma üretiminde kullanılan süt tozunda yapılan analizler.....	45
3.2.6. Dondurma mikslерinde yapılan fiziksel ve kimyasal analizler.....	46
3.2.6.a. Kurumadde tayini.....	46
3.2.6.b. Yağ tayini.....	46
3.2.6.c. Protein tayini.....	46

3.2.6.d. % Asitlik tayini.....	47
3.2.6.e. pH tayini.....	47
3.2.6.f. Viskozite tayini.....	48
3.2.7. Dondurma örneklerinde yapılan fiziksel ve kimyasal analizler.....	48
3.2.7.a. Kurumadde tayini.....	48
3.2.7.b. Yağ tayini.....	48
3.2.7.c. Protein tayini.....	48
3.2.7.d. % Asitlik tayini.....	48
3.2.7.e. pH tayini.....	49
3.2.7.f. Hacim artışı (overrun) tayini (%)......	49
3.2.8. Mikroorganizmaların tanımlanması.....	49
3.2.8.a. <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un tanımlanması.....	49
3.2.8.b. <i>Bifidobacterium bifidum</i> 'un tanımlanması.....	51
3.2.9. Mikrobiyolojik analizler.....	53
3.2.9.a. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı.....	54
3.2.9.b. <i>L. acidophilus</i> ve <i>B. bifidum</i> sayımı.....	54
3.2.9.c. Koliform grubu bakteri sayımı.....	55
3.2.9.d. <i>Enterobacteriaceae</i> sayımı.....	55
3.2.9.e. Maya ve küf sayımı.....	56
3.2.9.f. Psikrotrofik bakteri sayımı.....	56
3.2.9.g. <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı.....	56
3.2.9.h. <i>Salmonella</i> aranması.....	57
3.2.10. Asitliğe direnç denemeleri.....	57
3.2.11. Katalaz testi.....	58
3.2.12. Koagülaz testi.....	58
3.2.13. Oksidaz testi.....	59
3.2.14. Denemede çekilen fotoğraflar.....	59
3.2.15. Dondurmalarda yapılan duyuusal analizler.....	60
3.2.16. İstatistiksel analizler.....	60
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	61
4.1. Dondurma Üretiminde Kullanılan Çiğ Süt ve Pastörize Kremanın Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri.....	61
4.2. Dondurma Üretiminde Kullanılan Süt tozunun Bazı Özellikleri.....	62

4.3. Fermente Sütlerde Yapılan Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	63
4.4. Dondurma Mikslerinde Yapılan Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları.....	64
4.4.1. Kurumadde miktarı (%).....	64
4.4.2. Yağ miktarı (%).....	65
4.4.3. Protein miktarı (%).....	66
4.4.4. Asitlik değeri (%).....	67
4.4.5. pH değeri.....	69
4.4.6. Viskozite değeri.....	71
4.5. Dondurma Mikslerine Ait Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	73
4.5.1. <i>Lactobacillus acidophilus</i> sayısı.....	73
4.5.2. <i>Bifidobacterium bifidum</i> sayısı	75
4.5.3. Koliform grubu bakteri sayısı.....	77
4.5.4. <i>Enterobacteriaceae</i> sayısı.....	77
4.5.5. Maya- küf Sayısı.....	77
4.5.6. <i>Staphylococcus aureus</i> sayısı	77
4.5.7. <i>Salmonella</i> aranması.....	78
4.6. Dondurma Örneklerinde Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları.....	78
4.6.1. Kurumadde miktarı (%).....	78
4.6.2. Yağ miktarı (%).....	80
4.6.3. Protein miktarı (%).....	82
4.6.4. % Asitlik Değeri	84
4.6.5. pH Değeri.....	87
4.6.6. Hacim artışı (overrun) (%).....	89
4.7. Dondurma Örneklerinde Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	91
4.7.1. Mikroorganizmaların tanımlanması.....	91
4.7.1.a. <i>L. acidophilus</i> ' un tanısı.....	91
4.7.1.b. <i>B. bifidum</i> ' un tanısı.....	92
4.7.2. <i>L. acidophilus</i> sayısı.....	93
4.7.3. <i>B. bifidum</i> sayısı.....	99
4.7.4. <i>L. acidophilus</i> ve <i>B. bifidum</i> bakterilerinin birlikte gelişme durumu.....	104
4.7.5. Koliform grubu bakteri sayısı.....	106

4.7.6. <i>Enterobacteriaceae</i> sayısı.....	107
4.7.7. Maya- küf sayısı.....	107
4.7.8. Psikrotrofik bakteri sayısı.....	107
4.7.9. <i>Staphylococcus aureus</i> sayısı.....	107
4.7.10. <i>Salmonella</i>	108
4.7.11. <i>L. acidophilus</i> ve <i>B. bifidum</i> bakterilerinin mikroskopik görünümü.....	108
4.7.12. <i>L. acidophilus</i> ve <i>B. bifidum</i> bakterilerinin asitliğe direnç denemeleri.....	108
4.8. Dondurma Örneklerinde Yapılan Duyusal Analiz Sonuçları.....	115
4.8.1. Renk ve görünüş.....	115
4.8.2. Genel tekstür.....	118
4.8.3. Tat ve koku.....	121
4.8.4. Şekerlilik.....	123
4.8.5. Krema tadı.....	125
4.8.6. Fermente süt tadı.....	128
4.8.7. Yabancı tat.....	131
4.8.8. Ağızda bıraktığı his.....	134
4.8.9. Genel kabuledilebilirlik.....	136
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	140
KAYNAKLAR	145
ÖZGEÇMİŞ.....	157

SİMGELER DİZİNİ

AAD	Antibiotic Associated Diarrhoea (Antibiyotiğe Bağlı Diyare)
BCP	Brom cresol purple
BSM	Bifidus Selective Medium
cp	Centi poise
d	yoğunluk
DSMZ	Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen
EDTA	Ethylene Diamine Tetra Acetic acid
EHR	Ehrlich's reagent
EMP	Emden Mayer Parnas yolu (Glikoliz)
ESC	Esculin
FDA	Food and Drug Administration (Amerika Gıda ve İlaç Dairesi)
FOS	Fruktooligosakkarit
GALT	Gut Associated Lymphoid Tissues
GEL	Jelatin
GIT	Gastrointestinal Tract (mide bağırsak bölgesi)
GRAS	Generally Recognized As Safe (Genel olarak güvenilir olan)
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H ₂ SO ₄	Sülfürik asit
IBD	Inflammatory Bowel Disease (ateşli bağırsak hastalığı)
IgA	İmmüoglobülin A
IDF	International Dairy Federation
IND	İndol
ISO	International Organization for Standardization (Uluslararası Standart Organizasyonu)
KH ₂ PO ₄	Potasyum dihidrojen fosfat
kob	Koloni oluşturan birim
L	Litre
LAB	Laktik Asit Bakterisi
log	Logaritma
McF	Mc Farland
µm	Mikrometre
NaCl	Sodyum klorür
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	Sodyum fosfat (sulu)
N	Normalite
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
RCA	Reinforced Clostridium Agar
rpm	Dakikadaki devir sayısı
s	Saniye
SH°	Soxhlet Henkel Derecesi
TSE	Türk Standartlar Enstitüsü
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
X-Glu	5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucopyranoside
XYL	Ksilen

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Deneme Dondurmaların Üretim Akış Şeması.....	44
Şekil 3.2. API 50 CH Tanımlama Yönteminin Şeması.	51
Şekil 3.3. API 20 A Tanımlama Yönteminin Şeması.....	53
Şekil 4.1. Fermente Süt ve Deneme Mikslerdeki <i>L. acidophilus</i> ve <i>B. bifidum</i> Sayıları.....	76
Şekil 4.2. API CH 50 Stripinin 24 Saatlik İnkübasyon Sonrası Görünümü.....	92
Şekil 4.3. API 20 A Stripinin Sırasıyla 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Sonrası Görünümü.....	93
Şekil 4.4. X-Glu (ilk iki petri) ve MRS Agarda Gelişen <i>L. acidophilus</i> Kolonileri..	94
Şekil 4.5. Deneme Dondurmalarında Muhafaza Süresince Belirlenen <i>L. acidophilus</i> Sayıları.....	98
Şekil 4.6. Sırasıyla BSM ve MRS Agarda gelişen <i>B. bifidum</i> Kolonilerinin Görünümü.....	99
Şekil 4.7. Deneme Dondurmalarında Muhafaza Süresince Belirlenen <i>B. bifidum</i> Sayıları.....	104
Şekil 4.8. <i>L. acidophilus</i> 'un Tek ve <i>B. bifidum</i> ile Karışımı Şeklinde Üretilen Dondurmalarında Muhafaza Süresince Sayıların Değişimi.....	105
Şekil 4.9. <i>B. bifidum</i> 'un Tek ve <i>L. acidophilus</i> ile Karışımı Şeklinde Üretilen Dondurmalarında Muhafaza Süresince Sayıların Değişimi.....	105
Şekil 4.10. <i>L. acidophilus</i> ve <i>B. bifidum</i> ile Üretilen Dondurmalarındaki Muhafaza Süresince Bakteri Sayılarındaki Değişim.....	106
Şekil 4.11. Sırasıyla <i>L. acidophilus</i> ve <i>B. bifidum</i> kolonilerinin mikroskop altındaki görünümü.....	108
Şekil 4.12. <i>L. acidophilus</i> Sayısı Üzerine Etkili Olan pH Seviyesi x İnkübasyon Süresi İnteraksiyonu.....	111
Şekil 4.13. <i>B. bifidum</i> Sayısı Üzerine Etkili Olan pH Seviyesi x İnkübasyon Süresi İnteraksiyonu.....	114
Şekil 4.14. Renk ve Görünüş Puanı Üzerine Etkili Olan Krema Katkısı x Muhafaza Süresi İnteraksiyonu.....	118
Şekil 4.15. Renk ve Görünüş Puanı Üzerine Etkili Olan Krema Katkısı x Muhafaza Süresi İnteraksiyonu.....	128

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Probiyotik Bakteri İçeren Bazı Ürünler.....	5
Çizelge 1.2.	Probiyotik Ürünlerde Kullanılan Bazı Mikroorganizmalar.....	28
Çizelge 3.1.	Deneme Dondurma Örneklerinin Duyusal Değerlendirilmesinde Kullanılan Skala.....	60
Çizelge 4.1.	Deneme Dondurma Üretiminde Kullanılan Çiğ Süt ve Kremanın Bazı Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri.....	61
Çizelge 4.2.	Deneme Dondurma Üretiminde Kullanılan Süt Tozunun Bazı Kimyasal Özellikleri.....	62
Çizelge 4.3.	Fermente Sütlerde Bulunan <i>L. acidophilus</i> ve <i>B. bifidum</i> Sayısı Ortalamaları (log kob/g).....	63
Çizelge 4.4.	Fermente Sütlerde Bulunan <i>L. acidophilus</i> ve <i>B. bifidum</i> Sayılarına Ait Varyans Analiz Sonuçları (log kob/g).....	63
Çizelge 4.5.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait <i>L. acidophilus</i> Sayısı Ortalamaları (log kob/ml).....	64
Çizelge 4.6.	Dondurma Mikslerine Ait Bazı Analiz Sonuçları.....	64
Çizelge 4.7.	Dondurma Mikslerinde Belirlenen Kurumadde Miktarlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	65
Çizelge 4.8.	Krema Katkısı Değişkenine Ait Kurumadde Miktarı Ortalamaları..	65
Çizelge 4.9.	Dondurma Mikslerinde Bulunan % Yağ Miktarlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	66
Çizelge 4.10.	Krema Katkısı Değişkenine Ait % Yağ Miktarı Ortalamaları.....	66
Çizelge 4.11.	Dondurma Mikslerinde Bulunan Protein Miktarlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	67
Çizelge 4.12.	Krema Katkısı Değişkenine Ait Protein Miktarı Ortalamaları.....	67
Çizelge 4.13.	Dondurma Mikslerinde Belirlenen % Asitlik Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	68
Çizelge 4.14.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait % Asitlik Değerleri Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	68
Çizelge 4.15.	Krema Katkısı Değişkenine Ait % Asitlik Değerleri Ortalamaları..	69
Çizelge 4.16.	Dondurma Mikslerinde Belirlenen pH Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	70
Çizelge 4.17.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait pH Değeri Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	70
Çizelge 4.18.	Dondurma Mikslerinin Viskozite Değerlerine (cp) Ait Varyans Analiz Sonuçları (20 rpm).....	71
Çizelge 4.19.	Dondurma Mikslerinin Viskozite Değerlerine (cp) Ait Varyans Analiz Sonuçları (50 rpm).....	72
Çizelge 4.20.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Viskozite Değerlerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları (cp).....	72
Çizelge 4.21.	Dondurma Mikslerine Ait Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları (log kob/g).....	73
Çizelge 4.22.	Dondurma Mikslerinde Belirlenen <i>L. acidophilus</i> Sayılarına Ait Varyans Analiz Sonuçları (log kob/g).....	74

Çizelge 4.23.	Dondurma Mikslerinde Belirlenen <i>B. bifidum</i> Sayılarına Ait Varyans Analiz Sonuçları (log kob/g).....	75
Çizelge 4.24.	Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin Kurumadde Miktarları (%).....	78
Çizelge 4.25.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Kurumadde Miktarlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	79
Çizelge 4.26.	Krema Katkısı Değişkenine Ait Kurumadde Miktarı Ortalamaları..	80
Çizelge 4.27.	Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin (%)Yağ Miktarları.....	81
Çizelge 4.28.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Yağ Miktarlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	81
Çizelge 4.29.	Krema Katkısı Değişkenine Ait Yağ Miktarı Ortalamaları.....	82
Çizelge 4.30.	Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin Protein Miktarları (%).....	83
Çizelge 4.31.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Protein Miktarlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	83
Çizelge 4.32.	Krema Katkısı Değişkenine Ait Protein Miktarı Ortalamaları.....	84
Çizelge 4.33.	Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin % Asitlik Değerleri.....	85
Çizelge 4.34.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen % Asitlik Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	85
Çizelge 4.35.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait % Asitlik Değerleri Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	86
Çizelge 4.36.	Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin pH Değerleri.....	87
Çizelge 4.37.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen pH değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	88
Çizelge 4.38.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait pH Değeri Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	88
Çizelge 4.39.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Hacim Artışı Oranları (%).....	89
Çizelge 4.40.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen % Hacim Artışlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	90
Çizelge 4.41.	Krema Katkısı Değişkenine Ait Hacim Artışı (%) Ortalamaları.....	90
Çizelge 4.42.	Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurmalarında Belirlenen <i>L. acidophilus</i> sayıları (log kob/g).....	94
Çizelge 4.43.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen <i>L. acidophilus</i> Sayılarına (log kob/g) Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	96
Çizelge 4.44.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait <i>L. acidophilus</i> Sayısı Ortalamaları (log kob/g).....	96
Çizelge 4.45.	Muhafaza Süresi Değişkenine Ait <i>L. acidophilus</i> sayısı (log kob/g) Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	97
Çizelge 4.46.	Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurmalarında Belirlenen <i>B. bifidum</i> Sayıları (log kob/g).....	100
Çizelge 4.47.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen <i>B. bifidum</i> Sayısı (log kob/g) Ortalamalarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	101
Çizelge 4.48.	Krema Katkısı Değişkenine Ait <i>B. bifidum</i> Sayısı Ortalamaları (log kob/g).....	102

Çizelge 4.49.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait <i>B. bifidum</i> Sayısı Ortalamaları (log kob/g).....	102
Çizelge 4.50.	Muhafaza Süresi Değişkenine Ait <i>B. bifidum</i> Sayısı (log kob/g) Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	103
Çizelge 4.51.	Farklı pH Seviyelerinde Belirlenen <i>L. acidophilus</i> Sayıları (log (kob/ml)).....	109
Çizelge 4.52.	<i>L. acidophilus</i> Sayılarına (log kob/ml) Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	110
Çizelge 4.53.	pH Seviyesi Değişkenine Ait <i>L. acidophilus</i> Sayısı (log kob/ml) Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	110
Çizelge 4.54.	Farklı pH Seviyelerinde Belirlenen <i>B. bifidum</i> Sayıları (log kob/ml)...	112
Çizelge 4.55.	<i>B. bifidum</i> Sayılarına (log kob/ml) Ait Varyans Analiz Sonuçları...	112
Çizelge 4.56.	pH Seviyesi Değişkenine Ait <i>B. bifidum</i> Sayısı Ortalamalarının (log kob/ml) Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	113
Çizelge 4.57.	pH 3,5 Seviyesinde <i>L. acidophilus</i> ve <i>B. bifidum</i> ' un Canlı Kalma Oranları.....	114
Çizelge 4.58.	Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin Renk ve Görünüş Puanları (Tam puan: 9).....	115
Çizelge 4.59.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Renk ve Görünüş Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	116
Çizelge 4.60.	Krema Katkısı Değişkenine Ait Renk ve Görünüş Puanı Ortalamaları	116
Çizelge 4.61.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Renk ve Görünüş Puanı Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	117
Çizelge 4.62.	Depolama Süresi Değişkenine Ait Renk ve Görünüş Puanı Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	117
Çizelge 4.63.	Deneme Dondurma Çeşitlerinde Muhafaza Süresince Belirlenen Tekstür Puanları (Tam puan: 9).....	119
Çizelge 4.64.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Tekstür Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	119
Çizelge 4.65.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Tekstür Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	120
Çizelge 4.66.	Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Tekstür Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	120
Çizelge 4.67.	Dondurma Çeşitlerinin Muhafaza Süresince Tespit Edilen Tat ve Koku Puanları (Tam puan: 9).....	121
Çizelge 4.68.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Tat ve Koku Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	122
Çizelge 4.69.	Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Tat ve Koku Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	123
Çizelge 4.70.	Deneme Dondurma Çeşitlerinin Muhafaza Süresince Belirlenen Şekerlilik Puanları (Tam puan: 9).....	123
Çizelge 4.71.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Şekerlilik Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	124
Çizelge 4.72.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Şekerlilik Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	125

Çizelge 4.73.	Deneme Dondurma Çeşitlerinin Muhafaza Süresince Belirlenen Krema Tadı Puanları (Tam puan: 9).....	125
Çizelge 4.74.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Krema Tadı Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	126
Çizelge 4.75.	Krema Katkısı Değişkenine Ait Krema Tadı Puanları Ortalamaları	126
Çizelge 4.76.	Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Krema Tadı Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	127
Çizelge 4.77.	Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin Fermente Süt Tadı Puanları (Tam puan: 9).....	129
Çizelge 4.78.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Fermente Süt Tadı Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	129
Çizelge 4.79.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Fermente Süt Tadı Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	130
Çizelge 4.80.	Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Fermente Süt Tadı Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	130
Çizelge 4.81.	Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurmalarının Yabancı Tat Puanları (Hissedilmeyen puan: 9).....	131
Çizelge 4.82.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Yabancı Tat Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	132
Çizelge 4.83.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Yabancı Tat Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	133
Çizelge 4.84.	Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Yabancı Tat Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	133
Çizelge 4.85.	Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurmalarının Ağızda Bıraktığı His Puanları (Tam puan: 9).....	134
Çizelge 4.86.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Ağızda Bıraktığı His Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	135
Çizelge 4.87.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Ağızda Bıraktığı His Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	135
Çizelge 4.88.	Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Ağızda Bıraktığı His Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	136
Çizelge 4.89.	Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin Genel Kabul Edilebilirlik Puanları (Tam puan: 9).....	137
Çizelge 4.90.	Deneme Dondurmalarında Belirlenen Genel Kabuledilebilirlik Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	137
Çizelge 4.91.	Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Genel Kabuledilebilirlik Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	138
Çizelge 4.92.	Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Genel Kabuledilebilirlik Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	139

1. GİRİŞ

Sağlık ile tüketilen gıdalar arasındaki yakın ilişki, gıdaların sağlıklı beslenme açısından değerlendirilmesine yönelik çalışmaların giderek yoğunlaşmasına neden olmuştur. Yaşlanmaya bağlı olarak ortaya çıkan hastalıklar, diyabet, kalp hastalıkları, kanser gibi kronik hastalıklar ve sağlık harcamalarının yüksekliği fonksiyonel gıdalara olan talebin artışına yol açmış, ilgili kuruluşlar da özel amaçlı, sağlığı koruyucu ve iyileştirici gıdaların üretimine hız vermişlerdir (Açkurt vd 1999; Kim *et al.* 2006).

Beslenme kavramının değişmesiyle, birçok faktör fonksiyonel gıdaların gelişmesine katkıda bulunmuştur. Bu faktörlerden birisi, yaşam kalitelerinin artmasını isteyen tüketicilerin sağlıkla ilgili bilinçlerinin artması ve bu kişilerin kitle iletişim araçlarından önemli derecede etkilenmeleridir. Yayınlanan bir piyasa araştırmasına göre tüketiciler diyet, eksersiz ve genetik faktörler gibi üç faktörün sağlığı etkilediğini düşünmektedirler. Bu faktörler arasında diyet en önemli faktör olarak belirtilmiştir (Kwak and Jukes 2001 a)

Yarım yüzyıldan fazla bir zaman önce Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sağlığı; hastalık ya da zayıflığın yokluğu olarak değil bir bütün olarak fiziksel, zihinsel ve sosyal olarak iyi durumda olma şeklinde tanımlamıştır. Bu tanımdan yola çıkılarak sağlık 3 seviyede sınıflandırılmıştır: Birinci seviyedeki kişiler hastalık ya da yorgunluk belirtileri göstermeyip iyi koşullardadırlar ve rahatça çalışabilirler. Üçüncü seviyedeki kişiler belirgin olarak hastalık belirtileri gösterirler. İkinci seviye ise yarı sağlıklı olma durumudur. Bu seviye diğer iki seviyenin arasında yer alıp, bu seviyedeki kişiler çeşitli hastalık belirtileri gösterebilip kendilerini zayıf hissedebilirler. Bu belirtiler kişilerin normal hayatlarını etkileyebilir. Kimyasal ve biyolojik bilimler geliştiği ve kronik hastalıkların tedavi masrafları arttığı için tıbbın ilgi odağı, hastalığın tedavi edilmesinden çok, hastalığın önlenmesine doğru kaymıştır. Bu durum sadece gerçek hastaların değil aynı zamanda 2. seviyedeki potansiyel kişilerin de sağlık sektöründe düşünülmesi anlamına gelmektedir. Bu sonuç özellikle fonksiyonel gıdalar için iyi bir pazar oluşturmuştur (Kwak and Jukes 2001 a).

ABD’de gıda pazarının yaklaşık %50’si sağlık ve tıbbi nedenlerle tüketilen gıdaları içermektedir. Fonksiyonel gıdalar Amerika’da gıda pazarının %2’sini, Avrupa’da ise %1’ni oluşturmaktadır. FDA (Amerika Gıda ve İlaç Dairesi), bazı gıda veya besin öğeleriyle hastalıklar arasındaki ilişkinin bilimsel kanıtlara dayandığını ifade etmiştir. Avrupa ülkelerinde en çok tüketilen ürünler arasında probiyotik bakterileri içeren süt ürünlerinin, ikinci sırada yer aldığı belirtilmektedir (Açkurt vd 1999; Menrad 2003).

Hükümetlerin bakış açısından da fonksiyonel gıdalar önemli bir yere sahiptir. İnsanların ortalama yaşam sürelerinin artması, yaşlı insan sayısının artmasına neden olmuştur. Ortalama yaşam süresinin dünya sağlık örgütüne üye olan ülkelerde 2020 yılında 70 yıl olacağı tahmin edilmektedir ki bu ülkelerde ortalama yaşam süreleri 1950 li yıllarda 46, 1995 yılında ise 65 yıl olmuştur. Bu nedenle sağlık harcamalarının artışı, dünyanın birçok ülkesinde endişe kaynağı oluşturmaktadır. Avrupa ülkelerinde 1995 yılı sağlık harcamaları ortalama olarak toplam üretimin %8’i iken bu oran, geçen yüzyıla göre %1 oranında artmıştır. Bu bakımdan dünyada en uzun yaşam süresine sahip olan Japonya’da hükümet, ülke nüfusunun yaşlanması ve sonuçta sağlık giderlerinin artması hususunda endişe duymaktadır. Bu nedenle Japonya’da fonksiyonel gıdaların popülaritesinin yüksek olmasının nedenlerinden birisinin de bu olduğu düşünülebilir. Hükümet fonksiyonel gıdaların üretimini desteklemektedir. Çünkü sağlık harcamalarının azaltılmasının muhtemel bir yolunun fonksiyonel gıdalar olduğu belirtilmektedir (Kwak and Jukes 2001 a).

Fonksiyonel gıda kavramı ilk olarak Japonya’da oluşturulmuş olmasına rağmen bu kavram ulusal faktörler tarafından etkilendiğinden her geçen gün değişmekte ve gelişmektedir. Bu faktörler, kültür farklılıkları, gıda bilimine farklı yaklaşımlar ve ülkelerdeki farklı pazar durumlarını kapsamaktadır. Fonksiyonel gıdaların tanımlanması hükümetler, endüstri ve üniversiteler tarafından farklı şekilde yapılmaktadır (Kwak and Jukes 2001 b; Stanton *et al.* 2001; Roberfroid 2002).

Fonksiyonel gıdaların, hastalığın ileri aşamalarında ilaç amacıyla değil, hastalık belirtilerinin görülmeye başladığı aşamada hastalığın önlenmesi amacıyla kullanılması

gerektiği şeklindeki yaklaşım Japonya'daki fonksiyonel gıda konseptini oluşturmaktadır. Fonksiyonel gıda kavramı tamamen yeni bir kavram değildir. Uzak Doğunun Çin kültüründen etkilenen bir çok ülkesinde gıda ve ilaçların aynı kaynaktan çıkan materyaller olduğu düşünülmektedir (Kwak and Jukes 2001 a).

1988 yılında Japonya Sağlık Bakanlığı'nın (Ministry of Health and Welfare, MHW) fonksiyonel gıdalarla ilgili düzenlediği bir toplantıda fonksiyonel gıdalar; hastalıkları iyileştiren ve önleyen, vücut ritmini kontrol eden ve vücudun savunma mekanizmasıyla ilgili fonksiyonları yeterli bir şekilde yerine getiren gıdalar olarak tanımlanmıştır. 1990 yılında MHW tarafından yayınlanan bir raporda fonksiyonel gıda kelimesi yerine ilk olarak FOSHU (Foods for Specific Health Use) terimi kullanılmıştır (Kwak and Jukes 2001 a; Roberfroid 2002). 1995 yılında İngiltere'de "Ministry of Agriculture, Fisheries and Food" (MAFF) tarafından yapılan geçici tanımlamada fonksiyonel gıdalar, beslenme etkisi yanında özel tedavi edici, iyileştirici, fizyolojik yararlar içeren bileşenleri bünyesinde bulunduran gıdalar olarak tanımlanmıştır (Kwak and Jukes 2001 a). Amerika'da ise fonksiyonel gıdalar resmi bir tanımlama olmamasına rağmen FDA'nın izniyle serbestçe satılabilmektedir (Sanders and Huis in't Veld 1999; Stanton *et al.* 2001). Günümüzde en çok kabul edilen tanımlamaya göre fonksiyonel gıdalar, bilinen besleyici etki yanında vücut içinde bir veya daha fazla hedef fonksiyonu güvenli bir şekilde yerine getirebilen, bir bakıma sağlıklı olmaya yardımcı olan ve /veya hastalık riskini azaltan gıdalar olarak tanımlanmıştır (Roberfroid 1999; Menrad 2003; Saher *et al.* 2004; Stanton *et al.* 2005; Urala and Lahteenmaki 2005).

Günümüze kadar değişik formlarda birçok fonksiyonel gıda pazara sunulmuştur. Bunların bir çoğu bir veya daha fazla karakteristik fonksiyonel bileşen içermektedirler. Bu bileşenler oligosakkaritler, şeker alkoller, peptitler ve proteinler, prebiyotik ve probiyotikler, antioksidanlar, diyet lifler, kolinler, glikozitler ve isoprenoidler, fitokimyasallar ve çoklu doymamış yağ asitlerini kapsamaktadır (Açkurt vd 1999; Çakır 2005). Probiyotik bakterilerin kullanılmasıyla gıdalar fonksiyonel gıda kapsamına dahil olmaktadır (Roberfroid 2000; Biström and Nordström 2002). Avrupa'daki fonksiyonel gıda pazarı asıl olarak probiyotik ve prebiyotik içeren süt ürünlerinin

geliştirilmesi üzerine; Amerika’da ise gıdaların vitamin ve mineral madde yönünden zenginleştirilmesi üzerine odaklanmıştır. Avrupa’da fonksiyonel gıdalar arasında en aktif sahayı probiyotik süt ürünleri oluşturmaktadır (Stanton *et al.* 2001; Mattila-Sandholm *et al.* 2002).

Pazarlanan fonksiyonel gıdaların büyük çoğunluğu süt orijinlidir. Japonya’da içerisinde canlı bakteri içeren 50 çeşitten fazla süt ürünü üretilmekte ve pazarlanmaktadır. Benzer durum Almanya, Fransa ve İsveç gibi gelişmiş Avrupa ülkelerinde de görülmektedir (probiyotik ürünler, üretilen fermente süt ürünlerinin %25’ni oluşturmaktadır). Ticari olarak yapılan üretim yanında, araştırmalar da özellikle fermente sütler, dondurma, yoğurt, yoğurt dondurması, peynir ve soya üzerinde odaklanmaktadır. Yeni bir ürünün ismi o ürünün geleneksel isminin önüne “bio” ön eki getirilerek türetilmektedir (biogurt, biodrink, biokys vb) (Gomes and Malcata 1999).

Japonya’da en az 40 yıldır, Almanya’da ise 20 yıldan daha uzun bir zamandır insan orijinli laktik asit bakterileri (LAB) fermente süt ürünlerinin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Özellikle *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum*, 1960’lı yılların sonundan itibaren Almanya’da, bu bakterilerin bağırsağa adapte olma kabiliyetlerinin yüksek olması ve düşük asitli yoğurt üretimindeki duyuusal üstünlükleri nedeniyle kullanılmaya başlanmıştır. Bu tip ürünler Almanya’da tatlı yoğurt ya da bioyoğurt olarak bilinirken Amerika’da asidofiluslu süt üretimi başlamıştır (Schillinger 1999; Holzapfel and Schillinger 2002).

Son yıllarda probiyotik bakteri içeren bir çok gıda ve özellikle süt ürünleri geliştirilip marketlerdeki yerini almıştır (Charteris *et al.* 1997; Fasoli *et al.* 2003; Gueimonde *et al.* 2004; Helland *et al.* 2004; Saarela *et al.* 2004). Yoğurt tipi ürünler başlıca *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. johnsonii*, *L. casei/paracasei* ve *Bifidobacterium* ssp. ile hazırlanmaktadır. *L. casei* Shirota ve *L. acidophilus* grubunun bazı türleri kullanımlarının güvenliği ve sağlığa etkileri ispatlanmış olan en uzun tarihçeye sahip olanlarıdır (Holzapfel *et al.* 1998). Probiyotik bakteri içeren bazı ürünler Çizelge 1.1’de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Probiyotik Bakteri İçeren Bazı Ürünler (Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Talwalkar and Kailasapathy 2004).

Ürün adı	Ülke	Kullanılan mikroorganizma
A-38	Danimarka	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> + <i>Leu. mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i> ve mezofilik laktokoklar
Bifidus milk	Almanya	<i>B. bifidum</i> veya <i>B. longum</i>
Bifidus yogurt	Birçok ülke	<i>B. bifidum</i> veya <i>B. longum</i> + yoğurt kültürleri
Bifighurt	Almanya	<i>B. bifidum</i> + <i>S. thermophilus</i>
A-B yogurt	Fransa	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>
Biomild	Almanya	<i>L. acidophilus</i> + <i>Bifidobacterium</i> ssp.
Bifilact	Rusya	<i>L. acidophilus</i> + <i>Bifidobacterium</i> ssp.
Mil-Mil	Japonya	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> + <i>B. breve</i>
Kyr	İtalya	<i>L. acidophilus</i> + <i>Bifidobacterium</i> ssp. + yoğurt kül.
Bioghurt	Almanya	<i>L. acidophilus</i> + <i>S. thermophilus</i>
Ofilus	Fransa	<i>L. acidophilus</i> + <i>Bifidobacterium</i> ssp. + <i>S. thermophilus</i>
Biogarde	Almanya	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> + <i>S. thermophilus</i>
LC-1	Almanya	<i>L. acidophilus</i>
Symbalance	İsviçre	<i>L. acidophilus</i> + <i>Bifidobacterium</i> ssp. + <i>L. reuteri</i> + <i>L. casei</i>
Mona fysig	Hollanda	<i>L. acidophilus</i>
Asidophilus milk	Birçok ülke	<i>L. acidophilus</i>
Bio	Fransa	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> + yoğurt kültürleri
Cultura	Danimarka	<i>L. acidophilus</i> + <i>Bifidobacterium</i> ssp.
Biokys	Çekoslovakya	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> + <i>P. acidilacti</i>
Biobest	Almanya	<i>B. bifidum</i> veya <i>B. longum</i> + yoğurt kültürleri
BA live	UK	<i>Bifidobacterium</i> ssp. + yoğurt kültürleri
Zabady	Mısır	<i>Bifidobacterium</i> ssp. + yoğurt kültürleri

Probiyotik terimi ilk olarak, 1954 yılında Vergio'nun "Anti und probiotika" adlı eserinde, antibiyotikler ve diğer antimikrobiyal maddelerin sindirim sistemi mikroflorası üzerindeki zararlı etkilerini, konakçının sindirim sistemi mikroflorası üzerine olumlu etki yapan "probiotika" faktörlerle karşılaştırdığı zaman kullanılmıştır. 1965 yılında Lilly ve Stillwell probiyotikleri "diğer mikroorganizmaların gelişmelerini teşvik eden mikroorganizmalar" olarak tanımlamışlardır (Fooks *et al.* 1999; Salminen *et al.* 1999; Holzapfel and Schillinger 2002; Itsaranuwat *et al.* 2003).

Yunanca "yaşam için" anlamına gelen probiyotik kelimesi geçen uzun zaman boyunca farklı anlamlarda kullanılmıştır. Bu tanım zamanla gelişmiş ve Parker probiyotikleri,

konakçının sindirim sistemi mikroflorasının dengede kalmasına katkıda bulunarak faydalı etkilerde bulunan gıda katkıları olarak tanımlamıştır (Gomes and Malcata 1999). Bu tanımlama mikroorganizma kültürleri ve bunların antibiyotikler gibi metabolizma ürünlerini de içerdiğinden bu tanımlama daha sonra 1997 yılında Fuller tarafından, sadece canlı mikroorganizma kültürlerini vurgulamak için gözden geçirilmiş ve konakçının sindirim sistemi mikrobiyal dengesini geliştirmek suretiyle konakçının bağışıklık sistemi ve sindirim işlevine faydaları olan canlı mikrobiyal gıda katkıları olarak tanımlanmıştır (Shortt 1999; Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Bomba *et al.* 2002; Irianto and Austin 2002; Ouwehand *et al.* 2002; Sullivan and Nord 2002; Avonts *et al.* 2004; Coeuret *et al.* 2004). Günümüzde bu tanımlama genişletilmiş ve şu anda üzerinde ittifak edilen tanımlamaya göre probiyotikler; sindirim sistemi mikroflorasını geliştirerek konakçının sağlığı üzerine yararlı etkiler sunan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır (Holzapfel *et al.* 1998; Blum *et al.* 1999; Dunne *et al.* 1999; Gomes and Malcata 1999; Salminen *et al.* 1999; Kailasapathy and Chin 2000; Bielecka *et al.* 2001; Kılıç 2001; McNaught and MacFie 2001; Ouwehand *et al.* 2001; Çakır vd 2002; Puuponen-Pimia *et al.* 2002; Sodini *et al.* 2002; Työppönen *et al.* 2002; Itsaranuwat *et al.* 2003; Vinderola and Reinheimer 2003; Helland *et al.* 2004; Commane *et al.* 2005; Hoesl and Altwein 2005; Olejnik *et al.* 2005; Stanton *et al.* 2005).

Son yıllarda yoğunlaşan araştırmalar, mide- bağırsak bölgesindeki (GIT) mikrobiyal yükün insan ve hayvanların sağlığı üzerinde büyük öneme sahip olduğunu doğrulamıştır (Holzapfel *et al.* 1998). Gerçekten de laktik asit üreten bakterilerin konakçı insanla faydalı işbirliği 100 yıldan daha uzun bir zaman önce 1892 yılında Döderlein tarafından vajinal bakteriler için, 1900 yılında Moro ve 1901 yılında Beijerinck ve Cahn isimli araştırmacıların önderliğini yaptığı çalışmalarda, özellikle sindirim sistemindeki laktik asit bakterileri için ileri sürülmüştür (Holzapfel and Schillinger 2002). Laktik asit bakterilerinin fermente süt ürünlerinde kullanılmasıyla sağlığa yararlı etkiler yaptığı 1908 yılında Elie Metchnikoff isimli Rus araştırmacı tarafından savunulmuştur. Metchnikoff Kafkasya'da yaşayan insanların uzun ömürlü olmalarının yüksek oranda fermente süt ürünleri tüketmeleriyle ilişkili olduğunu bildirmiştir (Fooks *et al.* 1999; Yasui *et al.* 1999; Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Sullivan and Nord 2002).

Metchnikoff sindirim sisteminde bulunan mikroorganizmaların insan sağlığına faydalarından çok zararlı olduklarını düşünmesine rağmen yoğurt bakterileriyle sindirim sistemindeki zararlı bakterilerin faydalı duruma geçtiğini düşünmekteydi (Holzapfel and Schillinger 2002). Fermente süt ürünleri üzerinde yapılan çalışmaların başlangıcı çok eskilere dayanmakla birlikte, probiyotikler konusunda yapılan çalışmalar son 10-15 yılda büyük hız kazanmıştır (Çakır vd 2002).

Sindirim sistemi fonksiyonel gıdaların test edilmeleri ve geliştirilmeleri için apaçık bir hedeftir. Çünkü bu bölge, alınan besinlerle insan sağlığı arasında ortak bir bölge gibi görev yapmaktadır (Zubillaga *et al.* 2001). İnsan sindirim sistemi bölgesi kompleks bir mikrobiyal ekosistem oluşturmaktadır (Holzapfel *et al.* 1998). Normal sağlıklı bir bireyin sindirim sisteminde 190'dan fazla cinse ait en az 400-500 bakteri türü tanımlanmıştır. Kalın bağırsaklardaki bakteri popülasyonu çok yüksektir ve maksimum 10^{11} - 10^{12} kob/g gibi yüksek bir sayıya ulaşabilir. İnce bağırsaklarda ise bakteri sayısı 10^4 - 10^5 kob/g gibi düşük bir sayıda iken midedeki bakteri sayısı pH ve pankreatik salgılar nedeniyle sadece 10^1 - 10^2 kob/g arasındadır (Salminen *et al.* 1998; Dunne *et al.* 1999; Fooks *et al.* 1999; Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Holzapfel and Schillinger 2002; Saarela *et al.* 2002; Wang *et al.* 2002 a; Isolauri *et al.* 2004; Penner *et al.* 2005).

GIT, çok karmaşık bir durum arz etmektedir. İnce bağırsakların mukozal geniş yüzey tabakası, mikroorganizmaların tutunmalarını ve burada kolonize olmalarını sağlar. Vücudumuzu saran deri tabakasının yaklaşık $2m^2$ olan yüzey alanıyla karşılaştırıldığında GIT, 150 - $200 m^2$ olduğu hesaplanan yüzey alanıyla muazzam bir genişliktedir. Yüzey alanının 3 misli büyümesi dairesel katlanma ile, 7-10 misli büyümesi epitel dokunun kıvrımlar halinde bulunmasıyla ve 15-40 misli artış ise bağırsak iç membranında emici rol oynayan tüy şeklindeki mikrovillilerin yardımıyla sağlanmaktadır. Böylelikle sindirim işlemi boyunca gerçekleşen etkileşimler için gerekli yüzey alanı ve mukozal bağırsak duvarına tutunma ve buna eşlik eden kolonize olma işlemi sağlanmış olmaktadır (Holzapfel *et al.* 1998; Holzapfel and Schillinger 2002).

Sindirim sistemindeki mikrobiyal ekolojinin anlaşılabilmesi için hızlı araştırma imkanlarına rağmen bu kompleks ekosistem ve mikroorganizmaların çevreleriyle etkileşimleri hakkında bilinenlerin hala sınırlı olduğu, yetişkin bir bireyin sindirim sisteminde yaklaşık olarak 10^{14} mikroorganizmanın kolonize olmuş durumda olduğu bildirilmektedir (Hosono *et al.* 1997; Holzapfel *et al.* 1998; Sanders 1999; Holzapfel and Schillinger 2002; Mattila-Sandholm *et al.* 2002; Saarela *et al.* 2002; Sui *et al.* 2002; Montesi *et al.* 2004). Vücudumuzdaki toplam doku hücrelerinin sayısı ile karşılaştırıldığında bakteri sayısının 10 kat daha fazla olduğu görülmektedir (Holzapfel *et al.* 1998; Çakır vd 2002; Puuponen-Pimia *et al.* 2002; Wang *et al.* 2002 b). Bu muazzam metabolik potansiyel, özellikle mikroorganizma sayısının 5×10^{11} kob/g gibi çok yüksek bir konsantrasyona çıktığı kolon başta olmak üzere vücudun fonksiyonları üzerinde kuvvetli düzenleyici etkisini akla getirmektedir (Klaenhammer and Kullen 1999; Holzapfel and Schillinger 2002).

Doğumu takiben yetişkin bir birey oluncaya kadar geçen süre içinde sindirim sistemi mikroflorasında önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Yeni doğan bir bebeğin bağırsaklarında hiçbir mikroorganizma bulunmazken doğum sırasında annenin doğum kanalından ve çevreden kaynaklanan bir çok bakteri kolonize olmaya başlamaktadır (Das 2002; Saarela *et al.* 2002; Vaughan *et al.* 2002; Isolauri *et al.* 2004). Yeni doğan bebekler yaklaşık olarak günde 800 ml anne sütüyle 10^5 - 10^7 adet bakteri almaktadırlar (Martin *et al.* 2004). Bir iki gün içerisinde koliform, enterokoklar, *Clostridium* ve laktobasiller feçes içinde belirlemekte; üç-dört gün içinde bifidobakterler görülmeye başlamakta, yaklaşık beşinci gün bifidobakterler ortama hakim olmaktadır. Koliform ve diğer bakterilerin sayısı, bifidobakterlerin artışına bağlı olarak düşmektedir. Genel olarak anne sütüyle beslenen bebeklerin feçeslerinde 10^{10} - 10^{11} kob/g bifidobakter bulunmaktadır ki bu sayı tüm bağırsak mikroflorasının tek başına %25'ini kapsamaktadır. Laktokok, enterokok ve koliformlar ise bağırsak mikroflorasının yaklaşık %1'lik kısmını teşkil etmektedirler (Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Isolauri *et al.* 2004). Anne sütüyle beslenen bebeklerde *Bifidobacterium* sayısı belirgin bir şekilde artarken *E. coli* ve *Streptococcus* sayısı azalmaktadır. *Clostridium* yok veya çok az sayıda bulunmaktadır. Anne sütü almayan bebeklerin sindirim sisteminde ise bu

değişim gözlenememekte, *Bacteroides*, *Clostridium* ve *Streptococcus* yüksek sayıda kalmakta, Bifidobakterler ortama hakim olamamaktadırlar (Holzapfel *et al.* 1998). Çocuk feçeslerindeki bakteri profili içinde bifidobakterlerin sayısının, *Bacteroides* ve fakültatif anaerobik bakteri sayısından daha fazla olması bakımından yetişkinlerden farklı olduğu ispatlamıştır. Ayrıca amonyum konsantrasyonu ve β - galaktozidaz enzim aktivitesi hariç diğer biyokimyasal parametrelerin yetişkinlerle benzer olduğu saptanmıştır (Zubillaga *et al.* 2001). Bifidobakterlerin çoğalmaları anne kolostrum sütü ve daha sonra anne sütündeki κ -kazeinin glikoprotein bileşeni tarafından uyarılmaktadır (Charteris *et al.* 1997; Gomes and Malcata 1999).

Sütten kesme ve yaşın ilerlemesiyle bağırsak florasında kademeli bir değişim meydana gelmektedir. Sindirim sistemindeki türler arasında %86'lık pay ile baskın hale geçen *Bacteroides* ve *Eubacterium*'ların ardından bifidobakterler üçüncü sıraya gerilemektedirler. Ek olarak *B. bifidum* ileri yaşlarda *B. adolescentis* ve *B. longum* ile yer değiştirmektedir (Charteris *et al.* 1997; Lourens-Hatting and Viljoen 2001). Yaşlanmanın başlaması, genellikle ileri yaşlarda mide salgılarının azalmasının sonucu olarak kontaminant *Clostridium* ve koliform grubu bakterilerin sayısında artma ve bifidobakterlerin sayısındaki önemli azalmalarla karakterize edilmektedir. Bundan başka sindirim sistemindeki asıl bakterilerin profilleri değişmektedir. Bebeklerdeki *B. infantis* ve *B. breve* ileri yaşlarda *B. adolescentis* ile yer değiştirmektedir. *B. longum* ise bütün yaşam boyunca bu bölgede kalmaktadır. Bu yaş profili diyetle alınan bifidojenik faktörlere ve konakçının fizyolojisine bağlı olarak değişebilmektedir (Gibson *et al.* 1997; Holzapfel *et al.* 1998; Gomes and Malcata 1999; Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Vaughan *et al.* 2002; Isolauri *et al.* 2004). *B. adolescentis* ve *B. longum* ise daha stabildir. Yaşın ilerlemesiyle bağırsak florası yeniden değişmektedir. Bifidobakterlerin sayısı daha da azalırken zararlı bakterilerin cins ve sayısı artmaktadır. Örneğin bifidobakterlerin sayısındaki önemli derecede azalma ve *Clostridium perfringens* sayısındaki artma, yaşlı insanlarda diyarelere neden olmaktadır (Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Isolauri *et al.* 2004).

İnsan sindirim sistemi, zararlı ve potansiyel patojen bakteriler baskın olmadığı sürece konakçı organizmaların fizyolojik fonksiyonlarına imkan tanıyan kinetik bir mikro ekosistemdir (Bielecka *et al.* 2001). Bağırsak florasının kompozisyonu sağlıklı bireylerde nispeten denge halindedir. Bu dengedeki bozulma bağırsak mikroflorasının değişmesine sebep olmaktadır (Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Saarela *et al.* 2002). Bu dengedeki değişme bifidobakterlerin azalıp, ince bağırsaklarda anaerop bakteriler ve *E. coli*'nin, kolonda ise *Enterobacteriaceae* ve bazı *Streptococcus*'lar gibi zararlı bakterilerin ortama hakim olmasına yol açmaktadır (Holzapfel *et al.* 1998). Bağırsak florası sadece yaşlanma sebebiyle değil aynı zamanda stres, diyet, ilaç kullanımı, kabızlık ve bakteri kontaminasyonu ve iklim gibi dış faktörlerden de etkilenmektedir (Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Rogelj *et al.* 2002; Wang *et al.* 2002 a; Isolauri *et al.* 2004). Gastroenteritis benzeri hastalıklar bakteriyel ve biyokimyasal profilde değişikliğe neden olabilmektedir. Antibiyotik tedavisinden sonra çocuklarda sindirim bozuklukları oldukça sık görülmektedir (Sanders 1999; Zubillaga *et al.* 2001). Sindirim sisteminin dengesinde meydana gelen bu düzensizlikler “disbiosis” olarak tanımlanmaktadır. Sindirim sisteminde bulunan faydalı mikroorganizmaların sistemin fizyolojik dengesine olumlu yönde katkıda bulunması ise “probiyos” olarak adlandırılmaktadır (Holzapfel *et al.* 1998; Çakır vd 2002).

Mikrofloranın kendine özgü dengesinin korunması, probiyotik ve prebiyotiklerin diyetle birlikte sistematik olarak alınmasıyla sağlanabildiği (Bielecka *et al.* 2001), probiyotik gıdaların tüketilmesinin, sindirim sistemi mikroflorasındaki bozulan dengeyi yeniden sağlayabildiği ve antibiyotik tedavisinin yan etkilerini kontrol etmede yardımcı olabildiği belirtilmektedir (Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Zubillaga *et al.* 2001; Mattila- Sandholm *et al.* 2002).

Geleneksel yoğurt fermentasyonunda kullanılan *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* yerli bağırsak florasına ait türler olmayıp safra tuzlarına dayanıklı değildir ve sindirim kanalından geçerken inaktif olmaktadır (Kailasapathy and Chin 2000; Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Tharmaraj and Shah 2003).

Gıdalarda ve terapötiklerde, ticari kullanım için seçilen probiyotik bakteriler bazı temel fonksiyonel, teknolojik ve güvenilirlik özelliklerine sahip olmalıdırlar. Fonksiyonel karakteristikler asıl olarak üretim, depolama ve tüketildikten sonra gerekli sayıda canlı kalabilme ve bağırsaklara tutunabilme özelliklerini, teknolojik karakteristikler ise esas olarak duyuşal nitelikleri ve gıdada gelişebilme özelliklerini kapsamaktadır (Salminen *et al.* 1998; Olejnik *et al.* 2005). Sonuç olarak üretim ve depolama esnasında bu özelliklerin stabiliteilerinin test edilmeleri farklı tip gıdalarda bulunmalarını sağlamak için gereklidir (Tuomola *et al.* 2001).

Seçilen probiyotik bakteriler sindirim sisteminin üst bölgelerinden geçerken yüksek sayılarda canlı kalabilmeli, bağırsak içerisinde yararlı etkiler sunabilmeli ve bağırsak bölgesine tutunup burada yerleşebilme kabiliyetinde olmalıdır (Ouwehand *et al.* 1999; Rogelj *et al.* 2002). Canlı kalabilmesi için, ince bağırsaklarda varolan safra tuzlarına, midedeki şartlara (pH 1-4), bağırsaklardaki lizozim gibi enzimlere, sindirim sırasında oluşan toksik metabolitlere ve oksijene dayanıklı olmalı, sağlık üzerine faydalı etki oluşturan özelliklere sahip olmalıdırlar (Kalantzopoulou 1997; Blum *et al.* 1999; Mattila-Sandholm *et al.* 1999 a; Shortt 1999; Kailasapathy and Chin 2000; Kimoto *et al.* 2000; Erkkila 2001; Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Ouwehand *et al.* 2001; Ouwehand *et al.* 2002; Vaughan *et al.* 2002; Zavaglia *et al.* 2002; Itsaranuwat *et al.* 2003; Oyetayo and Oyetayo 2005). Seçilen probiyotik bakteriler fajlara dirençli olmalı, iyi bir tat ve aroma ile kabul edilebilir renk ve tekstürde bir ürün oluşturabilmelidirler (Holzapfel *et al.* 1998; Gomes and Malcata 1999; Mattila-Sandholm *et al.* 2002; Puupponen-Pimia *et al.* 2002). Kullanılacak kültür tercihen insan sindirim sistemi mikroflorasının doğal bir üyesi olmalı, plazmit stabilitesini de içeren fenotip ve genotip bakımından kararlı, antibiyotiklere dirençli olmalı, patojen olmamalı, sindirim sistemindeki bilinen patojenleri inhibe edebilmeli, bakteriyosin oluşturabilmeli ve bağışıklık sistemini uyarma kabiliyetinde olmalıdır (Klaenhammer 1998, Dunne *et al.* 1999; Klaenhammer and Kullen 1999; Tuomola *et al.* 2001; Mattila-Sandholm *et al.* 2002; Rönka *et al.* 2003; Avonts *et al.* 2004; Hoesl and Altwein 2005).

Probiyotikler için ilk stres faktörü, tüketildikten sonra kısa bir süre için ağız boşluğundaki amilaz ve lizozim gibi enzimlerdir (Chou and Weimer 1999; Kimoto *et al.* 2000; Erkkila 2001). Sindirim sistemine girerken bakterilere karşı gerçek anlamda ilk tehdit yüksek asitli mide salgıları ve safra tuzlarıdır (Gueimonde *et al.* 2004). Burada kalma süresi kişiye, diyet ve ortamdaki genel duruma göre bir saatten birkaç saate kadar değişebilmektedir. Midenin pH değeri, midede gıda yokken düşük (pH 1,5), mide dolu iken yüksektir (pH 5,5). Bu şartlarda midede canlı kalabilen bakteriler için diğer bir tehdit, ince bağırsağın üst kısmındaki (duodenum) safra salgısı ve safra tuzlarına ek olarak pankreas salgıları, proteazlar ve hidrolazlar da probiyotikler için bir çevresel tehdit faktörü oluşturmaktadır. İnce bağırsağın alt taraflarında (ileum) bakterilerin varlığı ve gelişmeleri için şartlar iyileşmeye başlamakta ve canlı kalabilen bakterilerin türü ve sayısı mukozaya yapışarak hatta geçici olarak kolonize olarak yüksek sayılara çıkabilmektedir (4-8 log kob/ml) (Erkkila 2001). İnsanlarda uygun fizyolojik safra tuz konsantrasyonu %0,3-0,5 arasında değişmektedir (Vinderola and Reinheimer 2003). Ancak salgılanan safra tuzlarının oranı ve konsantrasyonu tüketilen gıdaya bağlı olarak değişmektedir. Sindirimin başladığı ilk saatlerde safra tuzu konsantrasyonu %0,5-2,0 arasında olup ikinci saat içerisinde bu oran daha düşük değerlere ineilmektedir (Kailasapathy and Chin 2000). Bu bakımdan probiyotik bakterilerin bu konsantrasyondaki safra asitlerine dirençli olmaları gereklidir (Dunne *et al.* 1999). *L. acidophilus*'un safra tuzlarına çok dayanıklı olduğu, bu bakteriyi diğer potansiyel *Lactobacillus* türlerinin ve bifidobakterlerin takip ettiği bildirilmiştir (Vinderola and Reinheimer 2003).

Her gün midede pH'sı yaklaşık olarak 1,5- 2 olan 2,5 L mide salgısı salgılanmakta ve bu asitli salgı tüketilen mikroorganizmaların çoğunun tahrip olmasına neden olmaktadır. Bu bakımdan probiyotik bakteriler için bu bölgeyi canlı olarak geçmek önemli bir kriterdir. Genel olarak *Lactococcus* türlerinin sindirim sistemini geçerken canlı kalamadıkları kabul edilmektedir. Probiyotik bakterilerin mideden geçerken canlı kalabilmelerinin farklılık gösterebildiği ve bu özelliğin suşa bağlı olduğu belirtilmektedir (O'Sullivan 2001; Sanders and Klaenhammer 2001; Zavaglia *et al.* 2002; Vinderola and Reinheimer 2003). Probiyotik bakterilerin asitliğe karşı dayanıklı

olmaları, sadece sindirim sisteminden geçerken canlı kalmalarını değil aynı zamanda bağırsaklarda kolonize olmaları için de gerekli olmaktadır (Hoerr and Bostwick 2000; Kailasapathy and Chin 2000).

Probiyotikler kolona ulaştıktan sonra kolon duvarının epitel yapıdaki mukoz yüzeyine tutunmalı ve geçici olarak burada kolonize olmalıdırlar. Çünkü bağırsak mukozasına tutunma kabiliyeti probiyotik bakteriler için en önemli seçim kriterlerinden biridir (Fuller 1997; Blum *et al.* 1999; Ouwehand *et al.* 1999; Suskovič *et al.* 2000; Tuomola *et al.* 2000; O'Sullivan 2001; Tuomola *et al.* 2001; Ouwehand *et al.* 2001; Vaughan *et al.* 2002; Rikkinen *et al.* 2003). Probiyotik bakteriler bağırsak epiteline tutunup kolonize olarak bağırsak mikroflorasının stabilizasyonunun sağlanmasında yeni alternatifler sunabilirler (Gomes and Malcata 1999). Yine sindirim sisteminde ve genital bölgelerde istenmeyen enteropatojenik mikroorganizmaların kontrol altına alınmasında ve bağışıklığın düzenlenmesinde önemli rol oynayabilirler (Blum *et al.* 1999; Vaughan *et al.* 2002; Rikkinen *et al.* 2003). Mikroorganizmaların bağırsak epitel hücrelerine tutunmasında bir çok mekanizma rol oynamaktadır. Mikroorganizmaların en dış yüzeyinin hidrofobik yapısı bakterinin konakçı dokuya tutunmasını sağlamaktadır. Bu özellik insan sindirim sistemi bölgesinin bakteriyel korunması için önemli olan rekabet için yardımcı olabilmektedir (Gibson *et al.* 1997; Ouwehand *et al.* 1999; Ouwehand *et al.* 2001; Vinderola and Reinheimer 2003).

Probiyotik bir ürünün tüketiciye faydalı olabilmesi için tüketim sırasında en az 10^6 kob/g bakteri ihtiva etmesi gerektiği belirtilmektedir (Dave and Shah 1998; Vinderola *et al.* 1999; Shah 2000; Vinderola *et al.* 2000; Talwalkar *et al.* 2001; Tharmaraj and Shah 2003; Gueimonde *et al.* 2004; Helland *et al.* 2004; Picot and Lacroix 2004). Ayrıca, bu ürünlerin düzenli olarak tüketilmesi, bu bakterilerin bağırsak florasının kompozisyonu üzerindeki olumlu etkilerini devam ettirebilmeleri için gereklidir (Brassart and Schiffrin 1997; Gomes and Malcata 1999; Roy 2001).

Probiyotik bakteriler için bir diğer seçim kriteri antimikrobiyal madde ve bakteriyosin üretebilme yeteneklerinin olmasıdır (Klaenhammer 1998; Dunne *et al.* 1999; Tuomola

et al. 2001; Työppönen *et al.* 2002). Probiyotik bakterilerin bir çoğunun bu maddeleri üretebildiği gösterilmiştir. Bu maddeler, organik asitler ve hidrojen peroksit gibi gelişmeyi inhibe eden maddeleri, bakteriosinleri, tutunmayı engelleyici bileşenleri ve bir dizi küçük molekül ağırlıklı antimikrobiyal maddeleri kapsamaktadır (Ouwehand 1999; Sanders and Klaenhammer 2001; Tuomola *et al.* 2001). Bu maddelerin in vitro şartlarda üretilmediği gösterilmiştir. Ancak in vivo şartlarda oluşmaları ve etkinlikleri hala bilinmemektedir. Bakteriyosinlerin in vivo ortamda üretilip üretilmediği ve bakteriyosinlerin tüketilmesinin sindirim sistemindeki yerli mikroflora üzerine ve diyare gibi rahatsızlıklar üzerine etkisinin olup olmadığı test edilmemiştir. Antimikrobiyal maddelerin üretimi probiyotikler için önemli bir seçim kriteri olduğundan dolayı bu maddelerin gerçekten in vivo şartlarda üretilip üretilmediği ve yerli mikroflora üzerinde faydalı etkiler gösterip göstermedikleri doğrulanmalıdır (Tuomola *et al.* 2001).

Probiyotik bakteriler için bir diğer seçim kriteri patojenik, toksik, kanserojenik olmamaları, yani kullanımları güvenli olmalıdır (Kalantzopoulou 1997; Zhou *et al.* 2001). LAB'nin süt endüstrisinde kullanılan geleneksel suşları kullanım güvenirliliği bakımından epeyce eski bir tarihe sahiptir. *L. acidophilus* gibi probiyotik türler 70 yıldan daha uzun bir süredir güvenli bir şekilde kullanılmaktadır. *Lactococcus* ve *Lactobacillus* cinsine ait türler büyük bir çoğunlukla GRAS statüsünde bulunurken, *Streptococcus* ve *Enterococcus* cinslerine ait türler ve birkaç LAB cinsi üyesi fırsatçı patojenleri içermektedir. Mevcut veriler, laktobasiller ve bifidobakterlerle yürütülen kontrollü klinik çalışmalarda bu bakterilerin hiç bir zararlı etkilerinin saptanmadığını göstermektedir. Bağırsak mukoz tabakasının bozulması, yapılan çalışmalarda toksitenin oluşumunu gösteren bir belirti olarak kullanılmış ve ticari probiyotik suşların mukoz tabakasının bozulmasında rollerinin olmadığı ispatlanmıştır (Wright *et al.* 2002). Bu bakteriler çok nadir olarak sindirim sistemi ve diğer enfeksiyonlarla ilişkilendirilmişlerdir ve teknolojik olarak kullanılan türler patojen olmayıp güvenirlilikleri kabul edilmişlerdir (Gomes and Malcata 1999; Sanders and Huis in't Veld 1999; Shortt 1999).

Laktobasiller ve bifidobakterler sağlıklı insanların sindirim sistemi mikroflorasının asıl elemanlarıdır (Saarela *et al.* 2002; Silvi *et al.* 2003). Kullanılacak probiyotik bakterilerin sindirim sisteminin daimi üyeleri olmaları gerekli olmayabilir ancak, bu bakterilerin insan ya da hayvanların genel sağlık durumları üzerine yararlı etkilerinin ispatlanmış olması gereklidir (Holzapfel and Schillinger 2002).

Sağlıklı bağırsak epitel dokusu, normal bağırsak mikroflorası ile birlikte patojen bakterilerin, çeşitli antijenlerin ve diğer toksik bileşenlerin sindirim kanalından kana geçmesine karşı bariyer görevi yapar (Gomes and Malcata 1999). Bariyer fonksiyonuna ek olarak bağırsak epitel dokusu antijenlerin asimilasyonunda da etkilidir. Sağlıklı insanlarda bu bariyer dayanıklı bir halde olup böylelikle konakçı korunmakta ve normal bağırsak fonksiyonları emniyete alınmış olmaktadır (Holzapfel *et al.* 1998; Kailasapathy and Chin 2000). Sağlıklı bireylerde bulunan bu canlı bariyer sindirim sistemini korur ve bağışıklık sisteminin direncini destekleyici olarak görev yapar (Holzapfel and Schillinger 2002). Normal mikroflorada veya epitel hücrelerde patojenler, antijenler, radyasyon veya kimyasal bileşikler tarafından başlatılan bir karışıklık olduğu zaman bariyer mekanizmasında oluşan hasarlar sebebiyle geçirgenlik bozulmakta ve patojen bakterilerin antijenlerin ve diğer zararlı maddelerin kana geçişleri kolaylaşmış olmaktadır. Bağırsak mikroflorasının değiştiği hastalık durumlarında bariyer tabakanın koruyuculuğu azalmakta ve farklı tipteki bağırsak enfeksiyonları sık sık görülmektedir. Bu nedenle probiyotik bakterilerin sadece tedavi amacıyla değil aynı zamanda özellikle koruyucu olarak da sunulması mantıklı olmaktadır (Gomes and Malcata 1999).

Bifidobacterium ve *Lactobacillus* cinslerine ait türler gıdalarda probiyotik katkısı olarak en çok kullanılan bakterilerdir (Charteris *et al.* 1997; Chou and Weimer 1999; Schillinger 1999; Alamprese *et al.* 2001; Saarela *et al.* 2002). Bu bakteriler insanlarda, zararlı bakterilerin gelişmelerinin engellenmesi, sindirime yardımcı olmaları, vitamin ve minerallerin vücuda alımı, vitamin sentezi gibi faydalı özellikler sunarlar (Gürsoy ve Kayardı 1999; Vinderola *et al.* 2000; Bielecka *et al.* 2001; Stanton *et al.* 2001; Temmerman *et al.* 2002; Työppönen *et al.* 2002; Avonts *et al.* 2004; Penner *et al.*

2005). Probiyotiklerin alınmasıyla sağlanan sağlık avantajları; laktoz intolerans belirtilerinin azaltılması, β -galaktosidaz gibi önemli sindirim enzimlerinin üretimi, sindirim sisteminin enfeksiyon hastalıklara karşı doğal direncinin artırılması, bağırsak hareketlerinin uyarılması/kabızlığın tedavisi, kolon kanserinin engellenmesi, fekal mutajenitenin azaltılması, serum kolesterol seviyesinin düşürülmesi, bağışıklığın uyarılması ve çeşitli üst sindirim sistemi rahatsızlıklarının önlenmesi şeklinde sıralanabilir (Gibson *et al.* 1997; Hosono *et al.* 1997; Guarner and Schaafsma 1998; Dunne *et al.* 1999; Fooks *et al.* 1999; Mattila-Sandholm *et al.* 1999 b; Salminen *et al.* 1999; Sanders and Huis in't Veld 1999; Yasui *et al.* 1999; Kailasapathy and Chin 2000; Oliveria *et al.* 2001; Roy 2001; Holzapfel and Schillinger 2002; Avonts *et al.* 2004; Heenan *et al.* 2004; Stanton *et al.* 2005). Bu avantajlar aşağıda verilen alt başlıklarla detaylı olarak açıklanmıştır.

Laktoz kullanımının artırılması

Süt ürünleri sağlıklı bir diyetin çok önemli bir parçasını oluşturur. Ancak birçok insan bağırsaklarındaki β -galaktosidaz enziminin yokluğu veya yetersizliği nedeniyle laktozu yeterince sindirememekte ve sonuçta bağırsak krampları ve ozmotik diyare gibi laktoz intolerans şikayetleri çekmektedir (Hosono *et al.* 1997; O'Sullivan 2001; Sanders and Klaenhammer 2001). Mikrobiyal faaliyet sonucu fermente süt ürünlerinde laktoz miktarı azaldığı ve β -galaktosidaz enzimi bulunduğu için bu ürünler laktoz intolerans kişilere daha uygundur. *L. acidophilus* ve *B. bifidum* gibi probiyotik bakteriler β -galaktosidaz enzimi oluşturarak süt ürünlerine olan hassasiyeti azaltabilmektedirler (Kailasapathy and Chin 2000; Lourens-Hatting and Viljoen 2001). Bifidobakterler ile yapılan yoğurtların laktoz intolerans kişilere verilmesiyle bu kişilerde laktozun sindiriminin arttığı görülmüştür. *L. acidophilus*, laktoz intolerans kişilerde görülen şikayetleri azaltmaktadır. Ancak bazı çalışmalarda laktoz intolerans kişilerde bifidobakterlerin, laktozun absorpsiyonunu önemli derecede artıramadığı bulunmuştur (O'Sullivan 2001; Zubillaga *et al.* 2001).

Kolesterol seviyesinin azaltılması

Genellikle kalp hastalıklarının oluşumunda yüksek serum kolesterol seviyesi büyük bir risk faktörü olarak düşünülmektedir. Fermente gıdalar karaciğerde kolesterol sentezini inhibe ederek veya bağırsaklardan emilimini azaltarak serum kolesterol seviyesini azaltabilmektedirler (Sanders and Klaenhammer 2001; Martensson *et al.* 2002). *L. acidophilus*'un belirli suşları ile bifidobakterlerin bağırsaklarda kolesterolü ayrıştırabildikleri ve emilimini azaltabildikleri saptanmıştır (Kalantzopoulos 1997). *L. acidophilus* safra asitlerini vücuttan daha hızlı atılan serbest asitlere dönüştürerek serum kolesterolünü azaltabilmektedir (Kailasapathy and Chin 2000). *L. acidophilus* M92 suşunun safra tuzları varlığında kolesterolü ayrıştırabildiği bildirilmiştir (Suskovič *et al.* 2000). Fermente süt ürünlerinin serum kolesterol seviyesini azalttığı ifade edilmektedir. Yüksek kolesterole sahip kişiler için plazma kolesterol seviyesindeki azalma, kalp krizi riskinin azalmasıyla önemli oranda ilişkilidir (Sanders 1999; McNaught and MacFie 2001; Stanton *et al.* 2001). Kolesterol metabolizmasının asıl yeri karaciğerdir. Ancak bir miktar da bağırsaklarda oluşmaktadır. LAB tarafından laktik asit üretimi sonucu pH düşerken kolesterol, dekonjuge safra tuzlarıyla birlikte çökmektedir. Bifidobakterlerin kolesterol seviyesinin azaltılmasında üstlendikleri rol henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Bifidobakterlerle beslenen fareler üzerinde yapılan bir çalışmada bifidobakterlerin HMG-CoA redüktaz enzimini içeren mekanizmayla kolesterolü azaltabildikleri saptanmıştır (Lourens-Hatting and Viljoen 2001). Bir başka teoriye göre ise “bile salt hidrolaz” (BSH) aktivitesine sahip *Lactobacillus* türleri safra tuzlarını intestinal bölgeden daha hızlı atılabilen serbest asitlere ayrıştırmaktadır. Çünkü serbest asitler vücuttan çıkarılırken kolesterolden yeni safra asitlerinin sentezi vücuttaki toplam kolesterol miktarını azaltabilmektedir (Holzapfel *et al.* 1998; Toit *et al.* 1998). Kolesterolün kontrol edilmesinde probiyotiklerin tam olarak etki mekanizması bu nedenle kesin değildir (Lourens-Hatting and Viljoen 2001).

Patojenlerle rekabet ve çeşitli sindirim sistemi bozukluklarının tedavisi

Günümüzde normal sindirim sistemi mikroflorasının, saldırgan enterik patojenlere karşı

koruyucu görev yaptığı tam olarak kabul edilmektedir (O'Sullivan 2001; Zhou *et al.* 2001; Mattila-Sandholm *et al.* 2002; Ouwehand *et al.* 2002; Puuponen-Pimia *et al.* 2002; Saarela *et al.* 2002). *L. acidophilus* ve bifidobakterler *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica* ve *Clostridium perfringens* gibi patojen bakterilerin gelişmesi üzerine antagonistik etkiye sahiptirler (Kailasapathy and Chin 2000; Zubillaga *et al.* 2001). Japonya'da çocuklar diyare benzeri hastalıklara karşı yüksek sayıda bifidobakter içeren süt ürünleri tüketerek korunmaktadırlar (Kailasapathy and Chin 2000). *L. acidophilus* ve *bifidobacterium* türlerinin kullanımı *E. coli*, *Salmonella* ve *Shigella* gibi bakterilerinin sebep olduğu diyarelerin tedavisinde ve önlenmesinde başarılı olmaktadır (Gibson *et al.* 1997; Sullivan and Nord 2002). Rotavirüsler başlıca 6 aylık ile 2 yaş arasındaki bebeklerde görülen diyarenin ana sebeplerinden birisidir ve gelişmekte olan ülkelerde yılda yaklaşık 1 milyon çocuk bu yüzden hayatını kaybetmektedir (Yasui *et al.* 1999; Stanton *et al.* 2001; Nomoto 2005). *B. bifidum* çocuklarda rotavirüslerin neden olduğu diyarenin önlenmesinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Kailasapathy and Chin 2000; Sullivan and Nord 2002; Nomoto 2005). Probiyotik bakterilerin yine, gıda alerjilerinde ve karın bölgesine uygulanan radyoterapi ve kolan kanserinin ilerlemesiyle seyreden bağırsak rahatsızlıklarının tedavisinde de kullanılabileceği bildirilmiştir (Salminen *et al.* 1998; Gomes and Malcata 1999).

Probiyotik bakteriler sindirim sistemindeki patojenlere karşı; (1) sindirim sistemindeki bağışıklıkla ilgili ve ilgili olmayan savunma bariyerlerinin artırılması, (2) patojenlerin tutunmalarının engellemesi, (3) laktik ve asetik asit gibi organik asitler, H_2O_2 , CO_2 , bakteriosinler, diasetil ve safra tuzları gibi metabolik ürünler vasıtasıyla patojenlerin antimikrobiyal inhibisyonu ve kompetitif baskılama şeklinde sıralanan mekanizmalarla mukavemet etmektedir (Corthier 1997; Holzapfel *et al.* 1998; Gomes and Malcata 1999; Kailasapathy and Chin 2000; Lourens-Hatting and Viljoen 2001; McNaught and MacFic 2001).

Probiyotiklerin bakteriyosin ve diğer düşük molekül ağırlıklı antimikrobiyal bileşikler gibi farklı madde üretme kabiliyetleri, onların bağırsak içerisinde canlı kalıp konakçı

canlıya faydalı etki göstermeleri ve patojenlerle rekabet edip onların bağırsaklara tutunmalarını inhibe etmeleri için en önemli özelliklerinden biri olmaktadır. Mide içersindeki asidik şartlar bu antimikrobiyal bileşiklerin aktivitesini daha da artırmaktadır (Erkkila 2001; Työppönen *et al.* 2002). Sindirim sistemindeki diğer muhtemel mekanizmalar, laktik ve asetik asit gibi organik asitlerin üretimi ile kalın bağırsaklarda pH'nın düşmesiyle patojen bakterilerle rekabet edilip onların inhibe edilmesini kapsamaktadır (Gibson *et al.* 1997; Zavaglia *et al.* 2002). Üretilen organik asitler bağırsakların peristaltik hareketini hızlandırarak dolaylı olarak patojenlerin hızlı bir şekilde uzaklaştırılmasını sağlamaktadır (Dunne *et al.* 1999; Erkkila 2001). Nisin, laktobrevin, acidophilin, acidolin, laktosidin, laktolin gibi bakteriyosinlerin geniş bir aralıktaki gıda kaynaklı patojenlere karşı etkili olduğu bilinmektedir. Heterofermantatif LAB tarafından sentezlenen CO₂ enzimatik dekarboksilasyon reaksiyonlarını inhibe eden anaerobik ortam oluşturarak veya ikili membran lipid tabakasında birikip geçirgenliği bozarak patojenleri inhibe edebilmektedir. Laktobasiller tarafından üretilen H₂O₂, laktoperoksidaz-tiyosiyanat yoluyla oluşan hidrosiyanik asit vasıtasıyla gıda kaynaklı patojenlere etki etmektedir. H₂O₂'nin antimikrobiyal etkisi bir çok enzimin denaturasyonuna sebep olan sülfidril gruplarının oksidasyonundan ve membran geçirgenliğinin artmasına sebep olan membran lipidlerinin peroksidasyonundan kaynaklanmaktadır. H₂O₂'nin gıdalardaki *S. aureus*, *Pseudomonas* ssp. ve çeşitli psikrotropik mikroorganizmaları inhibe ettiği rapor edilmiştir (Kailasapathy and Chin 2000; Erkkila 2001).

Probiyotik bakteriler yeterli oranda alındıklarında bağırsak epitel doku hücrelerindeki enterositlere yapışma hususunda patojenlerle rekabet edip onları saf dışı bırakabilmektedirler. Probiyotiklerin bağırsak epitel hücrelerinin en dış yüzeyindeki reseptörlere tutunması, mukozal limfoidlerin fonksiyonlarını aktiveştiren sitokinlerin sentezlenmesini sağlayan sinyal işleme prosesini sağlamaktadır. Glikosifingolipitler ve glikoproteinler gibi bu tip reseptörlerin enterik patojenler tarafından da kullanıldığı bilinmektedir. Günümüzde bilimsel veriler probiyotik bakterilerin hem sistemik bağışıklığı hem de intestinal mukozal bağışıklığı kuvvetlendirdiğini göstermektedir (Dunne *et al.* 1999; Kailasapathy and Chin 2000). Probiyotiklerin spesifik bir bakteri

grubuna (örneğin enteropatojenler) karşı etkileri, sistemik veya mukozal bağışıklığın uyarılması veya sindirim sistemindeki metabolize edici etkileriyle oluşturdıkları direkt antagonistik etkilerine bağlanmaktadır (Kalantzopoulos 1997).

Probiyotik türlerin sindirim sistemindeki diğer bakterilerle ve mukoz tabakasıyla yaptığı etkileşimlerin mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen gıda alerjileri ve bağırsak iltihaplanmaları gibi sindirim sistemiyle ilgili birçok klinik çalışmada kullanımları başarılı olmuştur. Sindirim sistemi hastalıkları başlıca patojenler, antibiyotikler ve rotavirüslerin neden olduğu ishali kapsamaktadır (Dunne *et al.* 1999; Erkkila 2001; Työppönen *et al.* 2002). Ateşli bağırsak iltihaplanması (IBD) midenin kronik iltihaplanmasıyla sonuçlanan, geniş bir aralıktaki tedavi edilemeyen hastalıkları kapsamaktadır (Mattila-Sandholm *et al.* 1999 b). IBD, genellikle kolon ve ince bağırsaklarda görülen, kronik ve tekrarlanabilen iltihaplanmalardır ve kolitis ile Chorn's hastalığını kapsamaktadır (Mattila-Sandholm *et al.* 1999 b; Saarela *et al.* 2002; Sullivan and Nord 2002). Probiyotik bakterilerin IBD'nin tedavisinde rahatlıkla kullanılabileceği bildirilmiştir (McNaught and MacFie 2001).

Antibiyotik tedavisinin en sık görülen yan etkisi, antibiyotiklere bağlı diyare (AAD, antibiotic-associated diarrhoea) olup görülme sıklığı %10-25 arasında değişmektedir (Brassart and Schiffrin 1997). Antibiyotik tedavisi normal sindirim sisteminin ekolojik mikroflorasını değiştirerek *C. difficile* benzeri patojenlerin ortaya çıkmasına ve diyareye sebep olmaktadır. *C. difficile*'nin neden olduğu sindirim sistemi rahatsızlıkları orta seviyedeki diyareden (%20-25) hayatı tehdit eden pseudomembranous kolitise (%95) kadar uzamaktadır (McNaught and MacFie 2001; Sullivan and Nord 2002; Lee *et al.* 2003; Nomoto 2005). Antibiyotiklerin sebep olduğu sindirim sistemi rahatsızlıklarında *L. acidophilus* ile birlikte alınan *B. longum*'un ampicilin alımının sebep olduğu diyarenin etkilerinin azaltılmasında ve sindirim sisteminde normal floranın yeniden kurulması için gerekli sürenin kısaltılmasında etkili olduğu bulunmuştur. Yine *B. longum* ihtiva eden yoğurtların tüketilmesiyle eritromisin tedavisinin yan etkilerinin ve özellikle bu antibiyotiğe bağlı gelişen diyarenin etkilerinin azaltıldığı bildirilmiştir (O'Sullivan 2001). Zavaglia *et al.* (1998), bifidobakterlerin alınmasıyla Peyer's Patch

hücrelerinin çoğaldığını ve konakçının enfeksiyonlara karşı bağışıklık sisteminin kuvvetlendiğini bildirmişlerdir.

Laktobasillerin kompetitif baskılama yoluyla in vitro şartlarda patojenik *E. coli*'nin bağırsaklara tutunmasının inhibe edildiği ve bu bölgeden uzaklaştırıldığı saptanmıştır (Gibson *et al.* 1997). Koliformların sebep olduğu diyarelerde probiyotik alımının faydalı etkisi, *L. acidophilus* tarafından üretilen antimikrobiyal maddelerin *E. coli*'nin enterotoksinlerini etkisizleştirmesiyle olabileceği bildirilmiştir (Bomba *et al.* 2002). Bifidobakterlerin ve *L. acidophilus*'un sindirim sisteminde oluşan gazları azalttığını ve *C. difficile*'nin sebep olduğu diyareyi hafiflettiği belirtilmiştir (Zubillaga *et al.* 2001).

Üst sindirim sistemi rahatsızlıklarının önlenmesi

L. acidophilus ve *Bifidobacterium* türlerinin peptik ülser, gastro-özofajial reflü, mide yanmaları ve mide kanseri gibi üst sindirim sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde faydalı rollerinin olduğu bildirilmektedir. *L. acidophilus* ve bifidobakterler özofagus, mide ve duodenum gibi yüksek asitli (pH 3) bölgelerden geçerken canlı kalıp, peptik ülserle sebep olan *Helicobacter pylori*'nin gelişmesini engelleyebilmektedirler (Brassart and Schiffrin 1997; Sanders 1999; Kailasapathy and Chin 2000). *H. pylori*'nin sebep olduğu hastalık vakalarında midedeki laktobasillerin sayıca yetersiz olduğu bulunmuştur. Yine böyle durumlarda bifidobakterlerin sayısındaki azalmayla eş zamanlı olarak fırsatçı enterobakterlerin sayısının arttığı ve lokal bağışıklığın değiştiği bulunmuştur. *H. pylori*'nin mide epitel dokusuyla temas sağlayabilmesi için bir miktar zamana ihtiyacı olduğu ve enfeksiyonun oluşabilmesi için sindirim sistemi mikroflorasının çok önemli olduğu ispatlanmıştır. Temel klinik verilere dayanarak, laktobasilleri ve bifidobakterleri içeren probiyotiklerin çocuklarda *H. pylori*'nin sebep olduğu rahatsızlıklarda ilaç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Zubillaga *et al.* 2001). *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerini içeren probiyotiklerin alınmasıyla bozulan mikrobiyal dengenin tekrar düzeltilmesinin ve bağışıklık sisteminin kuvvetlendirilmesinin mümkün olabileceği kanısına varılmıştır (Mattila-Sandholm *et al.* 2002; Saarela *et al.* 2002). *H. pylori*'nin kronik gastrit, peptik ülser ve mide kanseri gibi hastalıkların oluşumuyla bağlantılı

olduğu bilinmektedir (Mattila-Sandholm *et al.* 1999 b; Penner *et al.* 2005). *H. pylori* tarafından üretilen üreaz, üreyi hidrolize ederek mide pH'sını yükseltmekte ve bakterinin burada kolonizasyonuna yol açmaktadır (Sullivan and Nord 2002). *L. salivarius*'un *H. pylori*'nin hem tutunmasını hem de midede kolonize olmasını önlediği tespit edilmiş ve bu durum gnotobiotik (mikropsuz) BALB/c farelerin midelerinde ispatlanmıştır. Yapılan bir çalışmada *H. pylori*'nin gelişmesinin bağışıklık sistemi tarafından engellenebildiği ve midede daha önce yerleşmiş bulunan laktobasiller tarafından tamamen yok edilebildiği araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür. Yine *L. acidophilus*'un 6 ve *L. casei* ssp. *rhamnosus*'un bir suşunun *H. pylori*'nin gelişmesini inhibe ettiği, ancak *B. bifidum*, *Pediococcus pentosaceus* ve *L. bulgaricus*'un *H. pylori*'nin gelişmesini inhibe edemediği bildirilmiştir (Zubillaga *et al.* 2001).

Kabızlığın azaltılması

Kabızlık özellikle yaşlı insanlar başta olmak üzere birçok insan için önemli bir sorundur. Yaşlıların bağırsaklarındaki bifidobakteri popülasyonunun azlığı kabızlığa neden olan faktörlerden biridir. İnulin prebiyotığının tüketimi sonucu kabızlık sorunu olan yaşlı insanların kalın bağırsaklarında bifidobakteri sayısının önemli derecede arttığı ve kabızlığın azaldığı bildirilmiştir. Japonya'da yapılan bir çalışmada ise bifidobakteriler ile fermente edilmiş sütlerin tüketilmesiyle yaşlı kişilerde kabızlık şikayetlerinin önemli derecede azaldığı rapor edilmiştir (O'Sullivan 2001).

Kanserin önlenmesi

Probiyotik bakterilerin antitümör aktivitesi, (1) kanserojen ve pro kanserojenlerin inhibisyonu (2) prokanserojenleri kanserojenlere dönüştüren bakterilerin inhibisyonu, (3) konakçının bağışıklık sisteminin aktivasyonu, (4) bağırsaklardaki pH' nın düşük olması, (5) bağırsak hareketliliğinin ve besinlerin geçme süresinin değişmesi gibi mekanizmalarla açıklanmaktadır (Fooks *et al.* 1999; Kailasapathy and Chin 2000; Bomba *et al.* 2002).

Sindirim sistemi florasının kolon kanseriyle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bu durum prokanserojenleri kanserojen aminlere çeviren β -glukoronidaz, β -glukosidaz, azoredüktaz, üreaz ve nitroredüktaz gibi fekal enzimlerin vasıtasıyla olmaktadır. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* türlerinin bir kısmının prokanserojenlerin aktivasyonundan sorumlu enzim seviyesini azaltabildiğini ve sonuç olarak tümör oluşum riskini azalttıklarını göstermiştir (Hosono *et al.* 1997; Gomes and Malcata 1999; Stanton *et al.* 2001). Yapılan bir çalışmada insanlarda *L. acidophilus* ve bifidobakterlerin alınmasıyla bağırsaklardaki bakteri aktivitesinin değiştiği, β -glukoronidaz, nitro-redüktaz, azo-redüktaz ve prokanserojenlerin kanserojen maddelere dönüşümüyle ilişkili bakteriyel enzimlerin aktivitesinin azaldığı ispatlanmıştır (Kalantzopoulou 1997; Kailasapathy and Chin 2000). Bomba *et al.* (2002), *L. acidophilus* LA-2 ile fermente edilmiş sütün tüketilmesiyle fekal mutajenitenin %71 azaldığını ve bağırsaklarda *Lactobacillus* ssp. ve *Bifidobacterium* ssp. sayısının arttığını bildirmişlerdir. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda *L. acidophilus* içeren sütlerin tüketilmesiyle mikrobiyal enzim aktivitesinde genel bir azalma ve buna eşlik eden fekal mutajenitede düşüş bulunmuştur (Kalantzopoulos 1997; Bomba *et al.* 2002). *L. casei*'nin deneysel olarak vücuda eklenen tümör hücreleri üzerinde antitümör ve bağışıklık sistemini uyarıcı etkileri olduğu, benzer etkilerin bu bakterinin ağızdan alınmasıyla da görüldüğü saptanmıştır. *B. longum* ile beslenen tavşanlarda azoksimetan'ın başlattığı ve kolon kanserine sebep olan colonic aberrant crypt foci (ACF) gibi preneoplastik markerlerin oluşumunda önemli derecede azalmalar görüldüğü yine oral yolla alınan bifidobakterlerin IgA üretiminde rol oynadığı saptanmıştır (Fukushima *et al.* 1998; Gomes and Malcata 1999).

Hayvanlar üzerinde yürütülen bir çok çalışmada probiyotikleri içeren yoğurtların ya da fermente sütlerin tüketilmesiyle tümör oluşumunun veya gelişmesinin inhibe edildiği bildirilmiştir (Kailasapathy and Chin 2000; Lourens-Hatting and Viljoen 2001). Farelerle yapılan bir çalışmada, *B. longum*'un kanser oluşum riskini gıda mutajeni (2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] quinolin) ile azalttığı saptanmıştır. Başka bir çalışmada *B. longum*'un farelerde azomethanın sebep olduğu kolon kanserini baskıladığı bulunmuştur. Laktobasillerin bazı türlerinin tavşanlarda bağırsak kanserini kimyasal

mutajenlerle önemli derecede engelleyebildiği belirtilmiştir. Probiyotik bakterilerin antimutajenik, antikanserojenik ve antitümörejenik aktivitelerin in vitro şartlarda mutajenlerin modifikasyonu, in vivo şartlarda ise kanser oluşumuna neden olan fekal enzimlerin indirgenmesiyle ve tümör oluşumunun engellenmesi yoluyla gerçekleştirildiği ileri sürülmektedir (O'Sullivan 2001).

Vücudun savunma mekanizması üzerindeki etkileri

Patojen bakteriler ve virüsler vücuda girdikleri zaman vücut bunları yabancı maddeler olarak algılayıp uzaklaştırabilme yeteneğine sahiptir. Bu yetenek genel olarak bağışıklık sistemi olarak isimlendirilmektedir (Yasui *et al.* 1999; Kavas ve Çelikel 2004). Sindirim sistemi florası bağışıklık yapabilen hücrelerin çoğaltılması ve mukozal bağışıklığın uyarılması için çok önemlidir. LAB'nin hem spesifik (sitokinler, IgA seviyesi, limpositlerin çoğaltılması) hem de spesifik olmayan mukozal yolla (fagositoz yoluyla, NK hücre aktivitesi) konakçıda bağışıklığı artırdığına dair yeterince kanıt olduğu bildirilmektedir (McNaught and MacFic 2001). İnsan vücudundaki en geniş bağışıklık organı olarak düşünüldüğünde, sindirim sistemiyle işbirliği halinde olan limpoid dokular (GALT) bulaşıcı ajanlara ve yabancı antijenlere karşı doğal koruma sağlarlar (Brassart and Schiffrin 1997; Dunne *et al.* 1999; Sanders 1999; Ouwehand *et al.* 2002). LAB'nin bu açıdan GALT'ın bir çok fonksiyonunu düzenlediği gösterilmiştir (Famularo *et al.* 1997).

Bağırsaklara tutunmanın bağışıklık sisteminin uyarılması için önemli olduğu düşünülmektedir (Sanders and Klaenhammer 2001; Tuomola *et al.* 2001; Isolauri *et al.* 2004). Bu nedenle M- hücreleri ve ince bağırsaklardaki Peyer's Patch hücrelerine yapışma yetenekleri probiyotik bakterilerin muhtemel bağışıklığı artırıcı özelliklerinin belirlenmesi açısından önemli olmaktadır (Tuomola *et al.* 2001). Bağışıklığa karşı ilk tepki M-hücrelerinin patojenler ve antijenlerle karşılaşmasıyla limpoid dokular içerisindeki Peyer's Patch hücrelerinde oluşturulmaktadır (Brassart and Schiffrin 1997). Bu durum tavşan ince bağırsağının bir kısmının ölü *B. breve* ile inoküle edilip 5 saat boyunca elektron mikroskobu altında izlendiği zaman bakterinin ilk olarak M- hücreleri

tarafından alınıp Peyer's Patch'e transfer edildiği saptanarak doğrulanmıştır (Yasui *et al.* 1999). Bağırsaklarda tutunabilen probiyotik bakteriler sindirim sisteminde geçici olarak kolonize olmakta ve bu suretle IgA seviyesinde bir artışa sebep olmaktadır. Bu durum, zayıflatılmış *Salmonella typhi* Ty 21a gibi patojenlere karşı tepki olarak serum IgA seviyesindeki bir artışın olduğu şeklinde ispatlanmıştır. Arzu edilen şekilde probiyotik bakteriler tarafından bağışıklık sisteminin uyarılması, sindirim sistemine tutunup ve burada kolonize olmalarının geçici veya uzun süreli olmasına bağlı olduğu görülmektedir (Famularo *et al.* 1997; Holzapfel and Schillinger 2002). Laktobasillerin belirli türleri ve Bifidobakterlerin tüketilmesiyle, salgılanan IgA seviyesinin yükseldiği ve rotavirüslere karşı spesifik antibadi miktarının arttığı bulunmuştur (Gibson *et al.* 1997; Fukushima *et al.* 1998; Zubillaga *et al.* 2001; Isolauri *et al.* 2004).

Diyarenin tedavisi amacıyla *L. casei* verilen çocuklarda bağışıklık tepkisi olarak IgA antibadi salgılayan B-hücrelerin dolaşımının arttığı bulunmuştur (Gibson *et al.* 1997). Gönüllü deneklerle yapılan başka bir araştırmada *L. acidophilus* ve *B. bifidum* bakterilerinin tüketilmesinden sonra, bu kişilerin kanlarında spesifik olmayan fagosit aktivitesinin arttığı saptanmıştır (Kailasapathy and Chin 2000; O'Sullivan 2001). Yine placebo kontrollü 12 kişi üzerinde yapılan bir çalışmada *B. lactis* verilen kişilerde verilmeyen kişilere göre genel bağışıklığın arttığı bildirilmiştir (Yasui *et al.* 1999; O'Sullivan 2001). Normal şartlarda sitokinlerin üretimiyle LAB'nin ilgili olduğu ileri sürülmektedir. 10^{11} kob/ml bakteri içeren yoğurtların tüketilmesiyle insanlardaki kan mononüklear hücrelerinde 2'-5' sentetaz enzim aktivitesinin arttığı bulunmuştur (Zubillaga *et al.* 2001).

İmmunoglobülin üreten hücrelerin yaklaşık %80'i (10^{10}) tek başına ince bağırsaklarda bulunmaktadır. Probiyotik etkilerin bir çoğu bağışıklığın düzenlenmesinde ve özellikle de T lenfositlerden hücrelerden salgılanan sitokinlerin dengede tutulmasında yardımcı olmakta ve bu suretle bağırsak rahatsızlıklarının hafifletilmesinde, mukozal yapının düzeltilmesinde ve alerjilerin iyileştirilmesinde probiyotiklerin kullanılmaları önerilmektedir (Sanders 1999; Kailasapathy and Chin 2000; Kılıç 2001; Holzapfel and Schillinger 2002).

Yukarıda detayları verilen ve insan sağlığına yararlı olan probiyotik mikroorganizmaların vücuda alınması; fermente süt ürünleriyle, gıdalara bu bakterilerin canlı hücrelerinin eklenmesiyle veya probiyotik bakterilerin canlı hücrelerinden hazırlanan farmakolojik ürünler şeklinde tablet veya kapsüllerin hazırlanması olmak üzere 3 farklı yolla olmaktadır. Avrupa’ da probiyotik etkinin insanlara sadece fermente süt ürünleriyle ulaştırılması istenmektedir (Kalantzopoulou 1997; Erkmen 2000).

Probiyotik bakteriler *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* ve *Bacillus* gibi cinsler içinde yer almaktadır. Probiyotik ürünlerde kullanılan mikroorganizmalardan en çok kullanılanların ve en güvenilir olanlarının *L. acidophilus* gibi *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsine ait olduğu belirtilmektedir (Kalantzopoulou 1997; Kailasapathy and Chin 2000; Mattila-Sandholm *et al.* 2002; Ouwehand *et al.* 2002; Sullivan and Nord 2002; Yeung *et al.* 2002; Turgut ve Çakmakçı 2003; Commane *et al.* 2005).

Yoğurt yapımında kullanılan mikroorganizmalar dışında tüm laktik asit bakterileri bağırsak florasında bulunurlar. Probiyotik bir ürün bu mikroorganizmalardan birini veya birkaçını içerebilir. İçerdiği mikroorganizma sayısı arttıkça probiyotiklerin kullanım alanı genişlemektedir (Yılsay ve Kurdal 2000). Probiyotik bakterilerden, *Bifidobacterium* cinsinin *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. adolescentis* ve *B. breve* türleri ile *Lactobacillus* cinsinin *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. johnsonii*, *L. reuteri* ve *L. rhamnosus* türleri gıdalarda probiyotik bakteri olarak çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Probiyotik süt ürünlerinin hazırlanmasında en çok kullanılan bakteri türleri *L. acidophilus* ile *B. bifidum*, *B. longum* ve *B. breve*’dir (Kılıç 2001; Turgut ve Çakmakçı 2003).

Probiyotik süt ürünlerinin üretiminde en çok kullanılan türler insan orijinlidir. Çünkü bu türlerin yabancı türlere veya hayvan orijinli olan türlere göre konakçı insanın fizyolojik ihtiyaçlarını daha kolay karşılayacağı ve bağırsaklarda daha çabuk kolonize olacağı genel olarak kabul edilmektedir. İnsan kaynaklı olan türler *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*, *L. acidophilus*, *L. casei* ssp. *rhamnosus* ve *E. faecium*’u içermektedir (Gomes and Malcata 1999).

Probiyotik bakterilerin insana taşınmasında taşıyıcı araç olarak kullanılmak veya kullanımlarını artırmak için bir çok gıda ürünü geliştirilme aşamasındadır. Bu ürünlerin bir çoğu süt orijinli olup, taze süt ürünleri, fermente süt ürünleri, dondurma, cottage peyniri, süt tozu, süt tatlıları gibi çeşitli gıdaları içerdiği belirtilmektedir (Charteris *et al.* 1997; Vinderola *et al.* 1999; Lourens-Hatting and Viljoen 2001; Sodini *et al.* 2002).

Probiyotiklerin canlılıkları probiyotik aktivitenin uygun bir göstergesi sayılmaktadır (Tharmaraj and Shah 2003). Ancak laktoz sindiriminin iyileştirilmesi, bazı bağışıklık sistemini uyarıcı aktiviteler, anti-hipertansif etkiler ve diyarelerin azaltılması gibi probiyotik aktivite için bakterilerin canlı olması gerekmemektedir. Bu durumda sağlığa faydalı etkiler canlı olmayan hücrelere veya hücre bileşenlerine, enzim aktivitesine veya fermentasyon ürünlerine bağlanmaktadır. Probiyotik kavramının ölü bakterileri hatta bakteriyel hücre kısımlarını kapsayıp kapsamadığı hususunda bazı fikir ayrılıkları vardır (Sanders and Huis in't Veld 1999; Mattila-Sandholm *et al.* 2002; Vinderola and Reinheimer 2003; Isolauri *et al.* 2004). Ölü hücrelerin in vitro şartlarda sitokinlerin üretimini gerçekleştirebilmelerine rağmen (Mattila- Sandholm *et al.* 1999 b), içerisinde canlı bakteri içeren fermente ürünlerin tüketilmesiyle T- hücreler tarafından oluşturulan γ -interferon üretiminin daha fazla arttığı rapor edilmiştir (Olejnik *et al.* 2005).

Süt ürünlerinde *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* türlerinin yaşam kabiliyetlerinin belirgin olarak kaybolduğu durumların düşük pH'da soğukta depolama sırasında olduğu rapor edilmektedir. Fakat bifidobakterlerin peynir, dondurma gibi düşük asitli gıdalarda iyi bir şekilde hayatta kalabileceği de belirtilmiştir. Probiyotik bakterilerin uzun süre hayatta kalabilmelerini sağlamak ve bu sayede konakçıya uygun sayıda bakterinin sağlanması için taşıyıcı gıdaya yerleştirilmesi veya asitliğe karşı hassas türlerin jelatin, selüloz asetat, κ -karagenan veya Ca-alginatla kaplanması yoluyla korunmalarının artırılması için yeni metotlar denenmiş, bunlardan taşıyıcı gıdaya yerleştirmenin, teknolojik ve ticari açıdan daha uygun olduğu görülmüştür (Gomes and Malcata 1999; Stanton *et al.* 2005). Çözülebilir serum protein filmleri ile kaplama ise Picot and Lacroix (2004) tarafından tavsiye edilmektedir. Probiyotik ürünlerde kullanılan mikroorganizmalardan bazıları Çizelge 1.2' de verilmiştir.

Çizelge 1.2. Probiyotik Ürünlerde Kullanılan Bazı Mikroorganizmalar (Hoesl and Altwein 2005; Penner *et al.* 2005).

<i>Lactobacillus</i> türleri	<i>Bifidobacterium</i> türleri	Diğer
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Sac. boulardii</i>
<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Str. thermophilus</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Ped. acidilacti</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Leu. diacetylactis</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>B. longum</i>	<i>Ent. faecium</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. adolescent</i>	<i>O. formigenes</i>
<i>L. johnsonii</i>		<i>Bac. subtilis</i>
<i>L. lactis</i>		<i>Lac. lactis</i>
<i>L. paracasei</i>		
<i>L. plantarum</i>		
<i>L. reuteri</i>		
<i>L. salivarius</i>		
<i>L. brevis</i>		

Bifidobakterler ilk olarak 1900 yılında Tissier tarafından tanımlanmışlardır. Tissier anne sütüyle beslenen bebeklerin feçeslerindeki bifidobakteri sayısının, anne sütüyle beslenmeyen bebeklere göre daha yüksek olduğunu ifade etmiştir (Roy 2001). Bifidobakterler çubuk şeklinde, gaz oluşturmayan, anaerobik, çomak şeklinde izole edilmiş ve başlangıçta *Bacillus bifidus* olarak tanımlanmıştır. *Bifidobacterium* cinsine ait türler genellikle Gram (+), spor oluşturmayan, hareketsiz, katalaz (-) ve anaerop olarak karakterize edilirler (Mullie *et al.* 2003). Bifidobakterler kısa, çomak, Y ve V formunda düz veya kıvrımlı formlara sahiptirler (Charteris *et al.* 1997; Gomes and Malcata 1999; Rada and Koc 2000). Ancak subkültürlerinde morfolojik yapı değişebilmektedir (Kılıç 2001).

Günümüzde *Bifidobacterium* genusu, 10 tanesi insan kaynaklı (diş çürükleri, feces ve vajinal), 17 tanesi hayvansal kaynaklı (hayvanların bağırsakları ve rumen), 2 tanesi atık sular ve 1 tanesi fermente sütler olmak üzere 30 tür içermektedir (Gomes and Malcata 1999). *Bifidobacterium* genusu, laktobasillerden oldukça yüksek (<%55) (Klein *et al.* 1998; Kılıç 2001), %54-67 mol arasında değişen guanin+ sitozin (G+C) içerikleriyle karakterize edilen Gram (+) bakterilerin *Actinomycetaceae* familyası içerisinde sınıflandırılmaktadır (Charteris *et al.* 1997; Gomes and Malcata 1999; Roy 2001). Bu

durum *Bifidobacterium* genusunda spesifiteyi doğrulamaktadır (Kılıç 2001). Bifidobakterler hücre duvarı içerikleri de dahil olmak üzere dikkate değer farklı fizyolojik ve biyokimyasal özelliklere sahiptirler. Bifidobakterler glukonatların yıkımı sırasındaki hariç, CO₂ üretmeksizin laktik asit ve asetik asit oluşturan sakkarolitik bakterilerdir (O'Sullivan 2001; Roy 2001; Mullie *et al.* 2003).

İnsan kaynaklı bütün bifidobakterler glukoz yanında galaktoz, laktoz ve fruktozu karbon kaynağı olarak kullanabilirler. Bifidobakterler bazı durumlarda kompleks karbonhidratları da kullanabilmektedirler. Bifidobakterlerin büyük bir kısmı tarafından fermente edilebilen karbonhidratlar D-galaktozamin, D-glukozamin, amiloz ve amilopektindir. Domuz kaynaklı mucinin sadece *B. bifidum* tarafından fermente edilebildiği yine D-glukoronik asidi fermente edebilen türün sadece *B. infantis* olduğu belirtilmektedir. Ayrıca arabinogalakatan, tragant ve ghatti gum sadece *B. longum* tarafından kullanılabilmektedir (Gomes and Malcata 1999). Bifidobakterlerde optimum pH'nın 6-7 arasında olduğu, pH 4,5-5'in altında ve pH 8-8,5'un üstünde hemen hemen hiç gelişmenin olmadığı, optimum gelişme sıcaklığının 37-41°C olduğu ve 20-25°C'nin altında gelişemedikleri, *B. bifidum* 60°C'de inhibe olduğu belirtilmektedir (Gomes and Malcata 1999; Kılıç 2001; Roy 2001) .

Bifidobakterler insan ve sıcak kanlı hayvanların sindirim sistemindeki genel anaerop bakterilerdir. Kompleks ve aktif ekosistemin çok önemli elemanlarıdır (Yasui *et al.* 1999; Rada and Koc 2000; Vaughan *et al.* 2002). Bifidobakterler insanlarda sindirim sistemi ve genital bölgelerde bulunurlar ve kesin oranları başlıca yaş ve diyet tarafından belirlenir (Gomes and Malcata 1999). Bifidobakterler bebeklerin sindirim sistemi florasında doğumu takiben ilk hafta içerisinde baskın olan türlerdir (Gibson *et al.* 1997; Al- Saleh *et al.* 1998; Saarela *et al.* 2002; Rinne *et al.* 2004). Yaşa ve beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak bifidobakterlerin sayısı zamanla azalmaktadır (Fukushima *et al.* 1998). Bifidobakterler sağlıklı çocuk ve yetişkinlerin sindirim sistemi toplam mikrobiyotasının %5-10'unu oluştururlar (Roy 2001). Bifidobakterlerin diyetle alınması insanlardaki bozulan bifidobakter florasının yeniden kurulması açısından çok önemlidir (Yasui *et al.* 1999).

L. acidophilus ilk olarak 1990 yılında Moro isimli araştırmacı tarafından sütle beslenen bebeklerin feçeslerinden izole edilip intestinal laktobasilleri simgelemek üzere *Bacillus acidophilus* olarak adlandırılmıştır. *L. acidophilus* insan ve hayvanların sindirim sistemleri ile genital bölgelerdeki hakim mikroflorayı oluşturmaktadırlar (Gomes and Malcata 1999; Itsaranuwat *et al.* 2003). *L. acidophilus* gram pozitif, çubuk şeklinde olup, tekli, ikili veya kısa zincir oluşturur. Asitte yaşayan anlamına gelmektedir. Zorunlu homofermantatiftir. Laktik asidin hem D- hem de L- izomerini oluşturur (Klaenhammer *et al.* 2002). Genel olarak 1,5-6,0 µm uzunluğunda ve 0,6-0,9 µm genişliğinde olup spor oluşturmazlar, flagellaları bulunmaz, hareketsizdirler. Hücre duvarının peptidoglikan yapısı L-lisin D-aspartat tipindedir. Genellikle taikoik asit olmayıp (Gomes and Malcata 1999; Kılıç 2001), sitokromları bulunmaz (Charteris *et al.* 1997). *L. acidophilus*'un birçok suşu, glikoz, galaktoz, sakkaroz, laktoz, fruktoz, mannoz, maltoz, trealoz, salisin, eskulin, sellobiyoz, amigdalin gibi geniş aralıktaki karbonhidratları fermente edebilmektedir. Laktoz sütte bulunan tek şekerdir, ancak *L. acidophilus*'un sakkarozu laktoza göre daha etkin bir şekilde kullanabildiği rapor edilmiştir. Bu sonuç β-galaktosidaz ve β-fruktofuranosidaz enzimlerinin etkilerinin farklılığına bağlanabilir. β-fruktofuranosidaz asıl enzimken β- galaktosidaz teşvik edici enzim olabilmektedir. Ayrıca sakkarozun bileşenleri olan glikoz ve fruktoz *L. acidophilus* tarafından kullanılabilirken laktozdaki galaktoz birimi istenilen seviyede metabolize edilememektedir. Glikoz ise EMP yoluyla son ürün olan laktik aside dönüştürülür. Oluşan laktik asit miktarı 1,8 mol/mol glikozdur. Bu sırada az miktarda diğer ürünler de oluşmaktadır. Asetaldehit, treonin gibi nitrojen içeren bileşiklerin parçalanmasından oluşabilecek gibi laktozun metabolize edilmesi sırasında da oluşabilmektedir. *L. acidophilus*' un yüksek miktarda treonin aldolaz enzim aktivitesine de sahip olduğu bildirilmiştir (Gomes and Malcata 1999).

L. acidophilus' un gelişmesi 45°C ve bazen 48°C gibi yüksek sıcaklıklarda olmaktadır. Bu nedenle *Thermobacterium* grubuna dahil edilmektedir. Optimum gelişme 35-40°C'ler arasındadır. 15-22°C'de gelişmemektedir. Asitliğe toleransları titre edilebilir asitlik cinsinden %0,3-1,9 arasında değişmektedir. Optimum gelişme pH' sı 5,5-6,0 arasındadır. Gelişebilmesi için ortamın pH'sının başlangıçta 5-7 arasında olması

gerekmektedir. 6 adet suşunda DNA'nın G+C oranı %36,7 olarak belirlenmiştir. İlk olarak çocuk feçesinden izole edilmiştir. Sindirim sistemi ve genital bölgeler de dahil olmak üzere çeşitli ekolojik bölgelerde dağılım göstermektedirler. İnsan ile yüksek yapılı hayvanların yerli mikrofloralarının önemli bir parçasını oluştururlar. Bu bakterilerin dağılımı pH, oksijen varlığı, çeşitli substratların seviyesi, bakteriyel etkileşimler ve salgıların varlığı gibi faktörlerden etkilenmektedir. *L. acidophilus*'un hem ürünle hem de saf kültür olarak alınması durumunda bağırsağa tutunduğu ve adapte olabildiği saptanmıştır (Gomes and Malcata 1999; Kılıç 2001).

Süt ürünlerinden dondurma; yağ, yağsız süt kurumaddesi, şeker, stabilizatör ve emülgatör ve bazen de lezzet ve renk veren maddelerden oluşan karışımın değişik düzenlerde işlenmesiyle elde edilen kompleks fiziko-kimyasal sisteme sahip bir ürün olarak tanımlanabilir (Tekinşen 2000). Dondurma, Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliği'nde "içerisinde tat ve çeşidine göre, süt ve/veya süt ürünlerini, içme suyu, şeker ve izin verilen katkı maddelerini bulunduran, istenildiğinde salep, yumurta ve/veya yumurta ürünleri, aroma maddeleri ve çeşni maddeleri gibi bileşenleri içeren karışımının pastörizasyon sonrası, tekniğine uygun olarak işlenmesi ve dondurulması ile elde edilen, yumuşak halde ya da sertleştirildikten sonra tüketime sunulan üründür" şeklinde tanımlanmıştır (Anonim 2004).

Dondurma, protein, karbonhidrat, yağ ile A, C, D, E ve B grubu vitaminleri, kalsiyum, fosfor, magnezyum, sodyum, potasyum, demir ve çinko gibi mineralleri içeren besin değeri yüksek bir süt ürünüdür (Korel vd 2002).

Dondurma imalatının ne zaman, nerede ve kimler tarafından yapıldığı hakkında kesin bir bilgi olmamakla beraber bazı kaynaklarda bundan 3000 yıl kadar önce Çin'liler tarafından üretildiği ve buradan Avrupa ülkelerine yayıldığı, bazı kaynaklarda ise Avrupa'da buzun üretildiği 16. yüzyılın dondurmacılığın başlangıcı olduğu belirtilmektedir. 19. yüzyıl başlarında Baltimor'da Jacob Fussel ilk dondurma tesisini kurmuş ve gerçek manada modern dondurma endüstrisinin temelini atmıştır. Ülkemizde ilk dondurma üretiminin ne zaman başladığına dair kesin bir bilgi bulunmamakla

birlikte bundan bir asır kadar önce İstanbul'da başladığı ve buradan Anadolu'ya yayıldığı bildirilmektedir (Tekinşen 2000; Mukan ve Evliya 2002).

Dondurma endüstrisi ABD ve Avrupa'da süt teknolojisinin önemli bir kolunu oluşturmaktadır. En fazla dondurma üreten ve tüketen ABD'de toplam süt üretiminin %10'u dondurmaya işlenmekte (5.542.000.000 litre/yıl) ve kişi başına yıllık tüketim yaklaşık 25 litreyi bulmaktadır. Ülkemizde ise toplam süt üretiminin sadece %0,4'nün dondurmaya işlendiği, yıllık üretimin 27.500.000 litre civarında olduğu ve kişi başına tüketimin 0,6-1,0 kg/yıl olduğu tahmin edilmektedir (Mukan ve Evliya 2002).

Dondurmanın bileşimine giren maddelerin, henüz dondurulmamış haldeki karışımına dondurma miksi adı verilmektedir. Miks hava ve aroma maddeleri dışında tüm dondurma unsurlarını içermektedir. Dondurma miksi kompleks kolloidal bir sistemdir. Bu sistemi oluşturan maddelerden bir kısmı gerçek çözelti halinde bulunurken bir kısmı kolloidal süspansiyonda, bir kısmı da kaba dispers fazda yer almaktadır. Şekerler ve tuzlar gerçek çözelti halindedir. Süt proteinleri, stabilizörler, karbonhidratlar kolloidal süspansiyonu oluştururlar. Yağ ise globüler halinde dağılmış durumdadır. Dondurma miksi, esas olarak yağın su içindeki emülsiyonu şeklindedir. Burada süt yağı dispers fazı oluştururken, kalsiyum kazeinat, kalsiyum fosfat miselleri, serum proteinleri, karbonhidratlar ve mineral tuzlarından oluşan sulu kısımda sürekli fazı meydana getirir (Gürsel ve Karacabey 1998).

Dondurma, donmamış serum faz, buz kristalleri, yağ globülleri ve hava zerreciklerinden oluşan kompleks bir kolloidal bir sistemdir. Dondurmada buz kristalleri, yağ globülleri, hava kabarcıkları ile donmamış kısımdaki süt proteinleri, şeker ve diğer maddelerin birlikte mükemmel bir şekilde karıştırılmış olması gerekir. Ayrıca buz kristalleri ile yağ globüllerinin de mümkün olduğu kadar ufak olması arzu edilir. Daha açık bir ifadeyle dondurma, taze iken ve düşük sıcaklıkta (-15°C civarında) saklanması sırasında stabil olmalı ve fiziksel yapısını korumalıdır. Bu nedenle üstün fiziksel kaliteli dondurma üretimi için karışımın dengede olması ve etkin bir şekilde işlenmesine ek olarak stabilizatör ve emülgatör maddeler içermesi gerekmektedir. Bu maddeler, çok az

miktarlarda karışıma katılmakla birlikte, dondurmanın istenen fiziksel kalitesinin ve yapısının sağlanmasında ve muhafazasında etkin rol oynarlar (Şimşek vd 2006).

Dondurma üretiminde stabilizatör kullanmanın temel amacı, düzgün bir yapı ve tekstür elde etmek, özellikle depolama esnasındaki sıcaklık dalgalanmalarına karşı buz kristallerinin büyüklüğünü azaltmak ve ürünün erimeye karşı mukavemetini artırmaktır. Stabilizatörler, düşük konsantrasyonlarda (<%1) viskozitenin düzgün bir şekilde artmasını sağlayıp, mikslerin yapılarının düzeltilmesini ve erime süresinin gecikmesini sağlarlar. Dondurma üretiminde kullanılan stabilizör maddeler genellikle karbonhidratlı ve proteinli olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Protein grubunda jelatin, kazein, serum proteinleri bulunmaktadır. Karbonhidrat grubunda ise deniz yosunlarından elde edilen alijinik asit, alginatlar, agar agar, karragenan ve furcellaran, bitkilerden ekstrakte edilen locust bean gum, guar gum ve pektin karboksi metil selüloz (CMC), pektin ve bakterilerden elde edilen ksantan gum gibi stabilizörler bulunmaktadır. Stabilizör maddelerin kullanım oranları %0,15-1,0 arasında değişmektedir. Stabilizörlerin etkili olabilmesi için bir karışım halinde yani bir kombinasyon şeklinde kullanılması önerilmektedir (Goff 1997; Tekinşen 2000; Mukan ve Evliya 2002).

Emülsifiyer olarak kullanılan maddeler ise başlıca gliserin esterleri, sorbitol esterleri, şeker esterleri ve diğer orijinli esterler olmak üzere 4 bölüme ayrılmaktadır. Emülsifiyer maddelerin kullanım oranları %0,3-1,0 arasında değişmektedir (Demirci ve Şimşek 1997). Emülsifiye edici maddeler ise dondurma karışımındaki yağın özellikle homojenizasyon veya diğer etkilerle çok küçük parçalara ayrılarak yüzey alanları artan yağ globüllerinin su içinde yağ emülsiyonu şeklinde homojen olarak dağılımının korunmasını sağlarlar. Emülsifiyer maddeler yağ globülünün etrafını sararak globüllerin dayanıklılığını ve kümeleşmelerini önlerler. Emülsifiye edici maddeler yine donma süresinin azaltılmasında, erimeye karşı direncin artırılmasında, ürünün pürüzsüz yapı kazanmasında da etkin rol alırlar (Goff 1997; Tekinşen 2000).

Dondurma ülkemizde de her yaştaki insanın özellikle çocukların, bilhassa yaz mevsiminde severek tükettiği bir gıdadır. Yakın bir geçmişe kadar tüketici, sıradan ve

sınırlı dondurma çeşitleri arasında tercih yapmak zorunda iken, endüstriyel dondurmanın gelişmesiyle birlikte farklı tatlarda, farklı çeşitte ve yapıda ürünler raflarda yerini almıştır. Hem endüstriyel hem de pastane tipi dondurmaların üretim aşamaları temelde miks hazırlama, olgunlaştırma ve dondurma işlemlerine dayanır. Dondurma esnasında miks içerisine hava hapsedilmektedir. Bugün sürekli gelişmekte olan modern dondurma teknolojisinde bileşime giren tüm maddeler iyice karıştırıldıktan sonra stabilizatörün su alarak istenen viskoziteye ulaşması için 15-20 dakika beklenir. Daha sonra karışım 68,3°C'de 30 dakika veya 80°C'de 25 s pastörize edilir. Dondurma bileşenleri farklı satış yerleri ve farklı bölgelere göre değişiklik gösterse de iyi kalitede bir dondurma %12 yağ, %11 yağsız kuru madde, %15 şeker, %0,3 stabilizatör ve emülgatör ve %38,3 toplam kuru madde içermelidir (Şimşek vd 2006).

Günümüzde dondurma üretimi klasik üretim yapısından sıyrılarak büyük endüstriyel tesislerde üretilir hale gelmiş ve yaz ayları dışında da tüketilebilme özelliğine kavuşmuştur (Bostan ve Akın 2002). Dondurmanın besin değerinin üstünlüğü ve sindiriminin kolaylığı yanında herkesçe sevilen tat ve aroması, ferahlatıcı niteliği tüketicinin ilgisini üzerine çekmiştir. Dondurma teknolojisi son 50 yıl içinde büyük gelişme gösterdiğinden bazı beslenme uzmanları yirminci yüzyılın ikinci yarısını dondurma çağı olarak nitelendirmişlerdir (Demirci ve Şimşek 1997).

Dondurma teknolojisi ülkemizde de gıda teknolojisinin çok hızlı gelişen ve önem kazanan dallarından birisidir. Dondurmanın ülkemizde çok kısa bir geçmişi olmasına rağmen kısa zamanda çok hızlı bir gelişme göstermesinin ana nedenleri arasında tüketici istekleri ve bilinci ile gıda teknolojisindeki gelişmeler sayılabilir. Yine her geçen gün farklı bileşim, tat, şekil ve özellikteki ürünleri tüketicilere sunmanın da etkisi büyüktür.

1. KURAMSAL TEMELLER

Dondurma, besin değerinin üstünlüğü ve sindiriminin kolaylığı yanında herkesçe sevilen tat ve aroması ile ferahlatıcı özelliği sayesinde toplumun ilgisini üzerine çekmiştir. Probiyotik bakterilerin stabiliteelerini artırmanın bir yolunun liyofilizasyon olduğu, bu tekniğin mikroorganizmaya zarar vermediği, bu nedenle de yaygın olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Bu nedenle probiyotik mikroorganizmaların taşınmasında dondurma gibi soğukta muhafaza edilen ve soğuk olarak tüketilen bir süt ürünü çok uygun olabilir (Turgut ve Çakmakçı 2003).

Probiyotik bakterilerin dondurma üretiminde kullanılmasına ilk olarak Hekmat and McMahon (1992) tarafından başlanmıştır. Hekmat and McMahon (1992), *L. acidophilus* ve *B. bifidum* bakterilerini kullanarak yaptıkları probiyotik dondurmada -29°C 'deki depolama sıcaklığında ve 17 haftalık muhafaza sürecince bu bakterilerin sayılarını ve β -galaktozidaz enzim aktivitesini izlemişlerdir. Dondurma miksinin hazırlanmasında %12 yağ, %11 yağsız süt tozu, %0,32 emülsifier/stabilizatör, %12,5 şeker ve %4,5 mısır şurubu kullanmışlardır. Dondurma miksi $79,4^{\circ}\text{C}$ 'de 28 s pastörize edilip, 17,5 Mpa basınçta homojenize edilmiş ve $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 1 gece olgunlaştırılmıştır. Daha sonra dondurma miksi iki eşit parçaya ayrılmıştır. Birinci kısım mikse 82°C 'de 30 dakikalık yeni bir ısı işlem uygulanıp 41°C 'ye soğutulmuş, diğer kısım miks ise sadece 41°C 'ye ısıtılıp, iki mikse de daha önceden çoğaltılan kültürlerden %4 oranında ilave edilip iyice karıştırıldıktan sonra, 42°C 'de istenen pH'ya ($4,9 \pm 0,05$) ulaşana kadar (5 saat) fermentasyon işlemi uygulanmıştır. Daha sonra miksler 5°C 'ye soğutulup, dondurma makinasından geçirilirken %10 oranında çilek aroması ilave edilmiş ve -29°C 'de sertleştirilip 17 hafta boyunca depolanmıştır. Depolamanın 1, 5, 9, 13 ve 17. haftalarında probiyotik bakterilerin sayımı yapılmıştır. *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayıları anaerobik ortamda RCA'da koloni morfolojisine göre belirlenmiştir. İlave ısı işlem uygulanan mikste serbest hale gelen amino asitlerden ve diğer stimule edici maddelerden dolayı asit üretiminin daha hızlı olduğu bulunmuştur. Fermentasyon sonrası miks pH'sının 4,9 olduğu ve bakteri sayılarının 5×10^8 kob/ml olduğu saptanmıştır. Dondurma işlemi sonrası bakteri sayılarında 1 log birimlik veya daha az

azalma olduğu bildirilmiştir. 1 haftalık muhafaza sonrası *L. acidophilus* sayısı 1.5×10^8 kob/ml, *B. bifidum* sayısı ise 2.5×10^8 kob/ml; 17 hafta sonra ise *L. acidophilus* sayısı 3×10^6 kob/ml, *B. bifidum* ise 1×10^7 kob/ml olarak bulunmuştur. β -galaktozidaz aktivitesi ise dondurma işlemi sonrası 1800 unite/ml iken 17 hafta sonra bu aktivite sadece %31’lik bir azalmayla 1240 unite/ml olduğu bulunmuştur. Probiyotik dondurmanın duyuasal olarak değerlendirilmesinde ise 3 farklı pH (5,0; 5,5; 6,0) seviyesinde üretilen dondurmalar kullanılmıştır. pH 5,5 seviyesinde üretilen dondurmanın en çok beğenildiği bildirilmiştir.

Davidson *et al.* (2000), geleneksel yoğurt bakterileri olan *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* yanında *L. acidophilus* ve *B. longum* bakterilerini kullanarak sade ve probiyotik bakteri katkılı olmak üzere 2 farklı yoğurt dondurması üretmiş ve -20°C ’de 11 hafta boyunca depolamışlardır. Üretilen dondurmalarda bakteri sayılarını ve canlı kalma durumlarını, laktoz ve D-galaktoz miktarını, duyuasal özelliklerini ve *B. longum* için en uygun selektif besiyerini araştırmışlardır. Bakteri sayılarının belirlenmesinde *S. thermophilus* için M 17, *L. bulgaricus* için RCA, *L. acidophilus* için MRS, *B. longum* için MBG ve MGRC agar kullanmışlardır. Üretilen yoğurt dondurmalarında tüm bakterilerin canlılıklarını çok iyi koruduklarını, probiyotik bakteri katkısının yoğurt bakterilerinin canlılıkları üzerinde etkisinin olmadığını, *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* sayısının 11 haftalık depolama sonunda başlangıçtaki sayılarına çok yakın, 6,5-7 log kob/ml seviyesinde canlı kaldığını bildirmişlerdir. Yine *L. acidophilus* ve *B. longum* sayısının başlangıçtaki ve depolama süresi sonunda hemen hemen aynı olduğunu, depolama süresi ve sıcaklığından etkilenmediklerini tespit etmişlerdir. Sonuçta probiyotik bakterilerin taşınmasında yoğurt dondurmasının mükemmel bir araç olduğunu, dondurarak depolamanın bakterilerin canlılıklarını çok az etkilediğini ve probiyotik bakterilerin yoğurt dondurmasının aroma ve karakteristik bileşenleri üzerinde çok az etkili olduğunu, ancak pH 5,6 seviyesinde üründe asit aroması hissedildiğini bildirmişlerdir.

Hagen and Narvhus (1999), yoğurt dondurmasının giderek yaygınlaştığını ve çok popüler olduğunu belirtmektedirler. Bu araştırmacılar *L. acidophilus* (La-5), *L. reuteri*, *B. bifidum* (BB-12) ve *L. rhamnosus* “GG” (ATCC 53103) olmak üzere 4 farklı bakteri

kullanarak 4 farklı tip yoğurt dondurması üretmişlerdir. Yoğurt dondurma miksleri %10 yağ, %12 yağsız süt kuru maddesi, %12.5 şeker, %0.8 stabilizatör/ emülgatör ve %0.3 vanilya içerecek şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım 75°C'de 2 dakika pastörize edilmiştir. Daha sonra 65°C'ye soğutulmuş, 175 kp/cm² basınçta homojenize edilmiş ve 4°C'de 24 saat olgunlaştırılmıştır. Hazırlanan dondurma mikslerine, daha sonra belirtilen kültürlerle 12 saat 37°C'de %1 D-glukoz ve %1 tripton ilavesiyle hazırlanmış olan %10 oranındaki fermente ürün ilave edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan dondurma miksleri 2 kısma ayrılmış, parçalardan birine %2 gliserol ilave edilip dondurma makinasından geçirilerek dondurma üretilmiştir. Üretilen dondurmalar; fermentasyon sonrası, dondurma işleminden hemen sonra ve -20°C' deki depolamanın 1, 4, 16 ve 52 haftalarında canlı bakteri sayısı, organik asit ve uçucu aromatik bileşiklerin miktarlarına bakılmıştır. Bakteri sayıları anaerobik ortamda MRS agarda belirlenmiştir. Dondurma işlemi esnasında bakteri sayısında 0,7-0,8 log birimlik azalma meydana geldiği bildirilmiştir. Dondurma işlemi sonrası bakteri sayısının *B. bifidum* için 7 log kob/g, *L. rhamnosus* için 7,4 log kob/g, *L. reuteri* için 7,65 log kob/g ve *L. acidophilus* için 6,75 log kob/g olduğu belirtilmiştir. Bakteri sayısında 52 haftalık depolama sonrasında önemli bir azalış olmadığı saptanmıştır. İlave edilen %2'lik gliserolün bakterilerin canlı kalması üzerine etkili olmadığı bulunmuştur. Sonuç olarak bu şekilde üretilen dondurmaların pH'sının 6,1-6,3 arasında olduğu, gliserol seviyesinin faydalı etki gösterebilmesi için %10-12 olması gerektiği, dondurmalarla yapılan duyu testlerde probiyotik tadın fazla hissedilmediği, ancak *L. reuteri* ile hazırlanan dondurmanın hafif ekşi tada sahip olduğu, ancak bütün dondurmaların genel kabul edilebilirliklerinin yüksek olduğu bildirilmiştir.

Christiansen *et al.* (1996), probiyotik dondurma üretiminde marketlerde ticari olarak satılan *B. bifidum* ve *L. acidophilus* ile fermente edilmiş sütleri kullanmışlardır. Bu sütlerin kullanım oranı dondurma miksine %25'i ile %75'i arasında değişmiştir. Dondurma miksine belirli oranda vanilya ve şeker ilave edilmiştir. Dondurma miksi 70 °C'ye kadar ısıtılmış ve 100 kg/cm² basınçta homojenize edilerek 75°C'de 1 dakika pastörize edilmiş ve ticari fermente sütler dondurma miksine eklenerek 4°C'de 24 saat olgunlaştırılmıştır. Karışım dondurma makinasından geçirilerek dondurma üretilmiş ve

16 hafta -20°C 'de muhafaza edilmiştir. %25-50 fermente sütle hazırlanan dondurma miksleri olgunlaştırma aşamasından sonra kontrol grubuyla karşılaştırılmış, yoğunluk ve viskozite açısından önemli farklılıklar bulunmamıştır. Overrun sayısı %25 ve %50 fermente sütle hazırlanan dondurma miksinde hemen hemen aynı, kontrol dondurma miksinde ise daha düşük bulunmuştur. pH ise fermente sütle hazırlanan dondurma mikslерinde kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Bu bulgudan hareketle pH daki azalmanın dondurma içerisine havanın hapsedilmesinde, kuru madde ve yağ miktarından daha fazla sorumlu olduğunu bildirmişlerdir. Dondurma miksinin olgunlaştırılmasından hemen sonra canlı bakteri sayısında hemen hemen hiç azalma olmadığını, dondurma işleminden sonra canlı bakteri sayısında sadece 0.6-1 logaritma birimlik azalma meydana geldiğini, bu aşamada *L. acidophilus* sayısının 1.2×10^7 ve *B. bifidum* sayısının 6×10^7 kob/ml olduğunu, yine -20°C 'de 16 haftalık depolama işleminden sonra bakteri sayısının her iki bakteri için de $0.5-1 \times 10^7$ kob/ml seviyesinde değiştiğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlara göre 16 haftalık depolama sonrasında bile yüksek sayıda bakterinin canlı kaldığını, ancak overrun sayısının düşük, tadının biraz ekşi olduğunu; buna rağmen bu metotla probiyotik dondurmanın üretilebileceğini belirtmişlerdir.

Haynes and Playne (2002), *L. acidophilus*, *B. lactis* ve *L. paracasei* ssp. *paracasei* bakterilerini kullanarak yaptıkları dondurmada, bu bakterilerin muhafaza boyunca sayılarını ve canlı kalma durumları üzerine prebiyotik Hi-maizea katkısı ve kullanılan kültür seviyesinin etkisini araştırmışlardır. Dondurmalar tam yağlı ve yağsız olarak üretilip -25°C 'de 12 ay boyunca muhafaza edilmiştir. Bakterilerin canlılıkları üzerindeki en olumsuz etkinin miksin dondurmaya dönüştüğü aşamadaki karıştırma ve dondurma işlemleri sırasında oluştuğunu, bu sırada *L. acidophilus*'un diğer iki bakteriye göre daha fazla zarar gördüğünü bildirmişlerdir. 52 hafta depolanan dondurmada ise *B. lactis*'in diğer iki bakteriye göre daha yüksek oranda canlı kaldığını, *L. acidophilus* ve *L. paracasei* ssp. *paracasei*'nin canlı kalma oranlarının birbirine yakın olduğunu bulmuşlardır. Yüksek yağ oranının bakterilerin canlı kalması üzerine ekstra koruyucu etkisinin olmadığını yine yüksek dozda kültür kullanılan dondurmada bakteri sayısında

keskin bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak probiyotik dondurma üretiminde direkt kültür ekleme metodunun uygun olduğunu bildirmişlerdir.

Akalın vd (2004), probiyotik bakteri katkılı yoğurtlarda bifidobakterlerin canlı kalma yeteneklerinin düşük olduğunu asitlik, pH, H₂O₂, erimiş oksijen miktarı, laktik ve asetik asit miktarı ve depolama sıcaklığı gibi bir çok faktörün bifidobakterlerin canlılıkları üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Alamprese *et al.* (2001), probiyotik dondurma üretiminde *L. johnsonii* La1 bakterisini kullanmışlardır. Bu bakterinin dondurmanın karakteristikleri üzerine olan etkileri yanında, bazı stres faktörlerinin (asit, safra tuzları ve antibiyotikler) bakterilerin canlılıkları üzerindeki etkilerini de araştırmışlardır. Dondurma miksi iki farklı şeker oranı (%15 ve 20) ve iki farklı yağ oranı (%5 ve 10) olacak şekilde 4 farklı tipte hazırlanmıştır. Dondurma miksi hazırlanıp 85°C'de pastörize edildikten sonra 4°C'ye soğutulmuş ve daha önceden MRS broth içerisinde çoğaltılan saf kültür santrifüj edilerek (4500x g'de 30 dak.) ayrılmış, 2 kez ringer çözeltisinde yıkandıktan sonra 1 L UHT süt içerisinde çözündürülüp dondurma miksine karıştırılmıştır. Bu şekilde hazırlanan dondurma miksi 24 saat 4°C'de olgunlaştırıldıktan sonra dondurma makinasından geçirilerek dondurmalar üretilmiş ve farklı iki sıcaklıkta (-28 ve -16°C) depolanmışlardır. Dondurmanın şeker ve yağ oranının, erime özellikleri ve sıklığı üzerinde çok etkili olduğunu, yağ içeriğinin hacim artışının ters ilişkili olduğunu, bakteri, şeker ve yağ içeriğinin dondurmanın pH ve viskozitesini etkilediği halde, asitlik üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Yine 3 aylık depolamanın (-28, -16°C) asitlik üzerine etkisinin olmadığını bulmuşlardır. Yine erime oranının şeker miktarıyla doğru, yağ miktarıyla ters ilişkili olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar dondurma işlemi sonrasında *L. johnsonii* sayısında sadece 0,2- 0,3 log birim azalma görüldüğünü ve bu seviyedeki azalmanın diğer araştırmacıların bulduklarından daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 8 aylık depolama sonrasında bakteri sayısındaki azalmanın istatistiki olarak önemli olmadığını ancak depolama sırasında bakteri sayısında dalgalanmalar görüldüğünü saptamışlardır. Sonuç olarak fermentasyon aşamasına gerek olmadan bu metotla da probiyotik dondurmanın üretilebileceğini bildirmişlerdir.

Bilim ve teknolojiadaki ilerlemeler ve tüketicilerin bilinçlenip tercihlerinin değişmesi daha sağlıklı ürünlerin üretimini zorunlu hale getirmektedir. Halk sağlığının korunmasında ve hastalıkların önlenmesinde probiyotik bakterilerin koruyucu ve tedavi edici özelliklerinin daha iyi anlaşılması üzerine, probiyotik bakterilerin çeşitli gıdaların üretiminde kullanılarak tüketicilere ulaştırılması üzerine araştırmalar tüm dünyada yoğunlaşmıştır. Ülkemizde sağlık ve beslenme üzerine yapılan araştırmalarda hayati önem taşıyan probiyotik fonksiyonel gıdaların üretilmediği veya yetersiz üretildiği anlaşılmaktadır. Şehirleşmeye bağlı olarak düzensiz yemek yeme, az hareket, stres, masa başı işlerin artması, şişmanlık ülkemizde de sağlığın korunmasına yönelik fonksiyonel gıdaların üretim ve tüketimini dünyadaki gelişmelere paralel olarak zorunlu hale getirmektedir. Bu amaçla araştırmada probiyotik dondurma üretimi hedeflenmiştir. Probiyotik dondurma üretimi sayesinde ülkemizde özellikle çocuk ve gençlerde koruyucu amaçla, yaşlılarda ise tedavi edici amaçlı özellikleri olan bir ürünün üretim imkanlarının araştırılması ve tanıtılmasının sağlanması amaçlanmıştır. Böylece fonksiyonel gıda ürün yelpazesine bir yenisinin eklenmesi düşünülmüş; farklı krema oranında (%5 ve 10 krema katkılı) ve farklı probiyotik bakterili (*L. acidophilus*, *B. bifidum* ve karışımı) dondurmaların muhafaza süresince mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerinin kontrol grubu ile karşılaştırılarak farklılıkları, en uygun bakteri ve/veya karışımı ile dondurmada probiyotik özelliğin korunma süresinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Dondurma üretiminde kullanılan süt ve krema

Araştırmada kullanılan çiğ süt ve krema Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi İşletme Müdürlüğü'nden temin edilmiştir. Denemede kullanılan pastörize krema, dondurma mikslerinin kurumadde ve yağ oranlarının ayarlanmasında kullanılmıştır. Dondurma üretimi Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Pilot Süt Fabrikası'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Probiyotik kültürler

Araştırmada kullanılan liyofilize haldeki *Lactobacillus acidophilus* (DSMZ 20079) ve *Bifidobacterium bifidum* (DSMZ 200456) suşları yurtdışından (Amtsgericht Braunschweig, Almanya) temin edilmiştir. Probiyotik kültürler kullanılmadan önce üreticinin talimatına göre dikkatlice açılmış ve MRS broth içerisinde arka arkaya 3 kez aktifleştirilmiştir. MRS agarda çoğaltılan kültürler steril özeyle toplanıp kullanılıncaya kadar %20' lik gliserol içerisinde -80°C'de muhafaza edilmişlerdir

3.1.3. Yağsız süttozu, şeker ve vanilya

Dondurma üretiminde kullanılan yağsız süttozu Pınar Süt Mamulleri San. A.Ş. (İzmir)'den, şeker ve vanilya ise Erzurum piyasasından temin edilmiştir.

3.1.4. Karagenan, guar gum ve locust bean gum (keçi boynuzu sakızı)

Dondurma üretiminde kullanılan karagenan ve guar gum GMT Gıda Katkı Mad. San. ve

Tic. A.Ş (İstanbul)'dan, keçi boynuzu sakızı ise İncom A.Ş (Mersin)'den temin edilmiştir.

3.1.5. Dondurmaların ambalajlanmasında kullanılan kaplar

Probiyotik dondurmaların duyuşal değeriendirilmesinde kullanılan bölmeli plastik kaplar Özge Plastik Tic. A.Ş (İstanbul)'dan, mikrobiyolojik ve kimyasal analizlerde kullanılan örneklerin alındığı 150 ml'lik cam kavanozlar ise Şişecam Anadolu Cam San. A.Ş (İstanbul)'dan temin edilmiştir. Üretilen dondurmalar dondurma makinasından çıktıktan sonra mikrobiyolojik ve kimyasal analizler için 150 ml'lik steril cam kavanozlara, duyuşal değeriendirmeler için ise bölmeli plastik kaplara doldurulup $-18\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme düzeni

Araştırma Tam Şansa Bağlı Bloklar deneme desenine göre planlanmış ve yürütülmüştür. İki farklı seviyede krema katkılı (%5 ve %10), kontrol ve üç probiyotik bakteri (*L. acidophilus* DSMZ 20079, *B. bifidum* DSMZ 200456 ve karışık haldeki bu iki bakteri) ile fermente edilmiş süt ilavesiyle üretilen probiyotik dondurmalar muhafazanın 0., 15., 30., 45., 60., 75. ve 90. günlerinde bazı mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal ve duyuşal özellikleri bakımından karşılaştırılmışlardır.

Deneme deseni, 2 (krema katkısı) x 4 (bakteri türü) x 7 (muhafaza süresi) x 2 (tekerrür) şeklindedir. Her bir analiz paralelli olarak yürütülmüştür.

3.2.2. Probiyotik dondurmaların üretimi

3.2.2.a. Dondurma mikslerinin hazırlanması

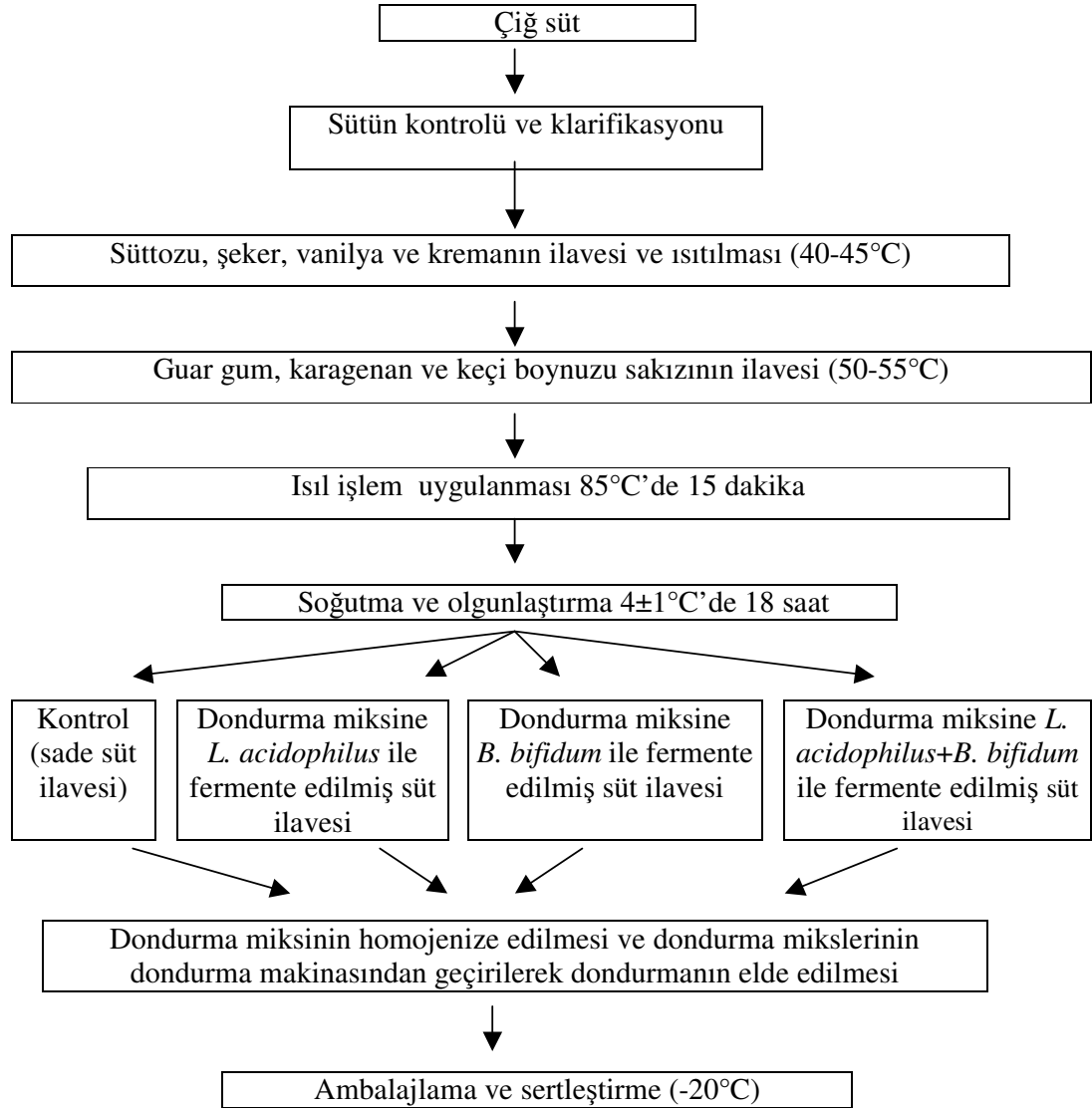
Deneme dondurmalarda ana bileşen olarak; %5 ve 10 krema, %10 yağsız süt tozu, %18 sakkaroz, %0,5 guar gum, %0,25 keçi boynuzu sakızı, %0,025 karagenan ve %0,04 vanilya kullanılmıştır. Kullanılacak sütün %10'u probiyotik bakterilerle fermente edilmek için ayrılmış ve dondurma miksine son aşamada ilave edilmiştir.

%5 krema katkılı dondurma miksini ana bileşenleri yukarıda belirtildiği gibi tartılıp hazırlandıktan sonra çiğ süt çift cidarlı kazana konulup 40°C'ye ulaşınca, içerisine hesaplanan şekerin bir kısmı, krema ve süttozu ilave edilip karıştırılmaya başlanmıştır. Sıcaklık 50-55°C'ye ulaşınca geri kalan şekerin içerisine keçi boynuzu sakızı, guar gum, karagenan ve vanilya katılıp iyice karıştırıldıktan sonra ilave edilmiştir. Karışımın sıcaklığı 85°C'ye ulaşınca yavaş yavaş karıştırılarak 15 dakika bu sıcaklıkta pastörize edilmiştir. Isıl işlem uygulaması ortalama 35 dakika sürmüştür. Daha sonra dondurma miksi çift cidarlı kazanda soğuk suyla biraz soğutulup 4 adet steril kaba eşit miktarlarda olacak şekilde alınmış ve soğuk hava deposunda 4±1°C'de 18 saat olgunlaşmaya bırakılmıştır.

Bu işlem %10 krema katkılı dondurma miksi için de aynen uygulanmıştır. Dondurma üretim akış şeması Şekil 3.1'de verilmiştir.

3.2.2.b. Fermente sütlerin hazırlanması

Dondurma mikslerinin hazırlanması sırasında ayrılan çiğ süt 121°C'de 10 dakika ısıtılma işleminden sonra 38°C'ye soğutulup, probiyotik bakterilerle inoküle edilmiştir. 1. kısım süt kontrol grubu olarak ayrılmış ve herhangi bir bakteri katılmamıştır. 2. kısım süt *L. acidophilus* ile 3. kısım süt *B. bifidum* ile ve 4. kısım süt ise *L. acidophilus* ve *B. bifidum*'un eşit oranda karışımı ile (%4) oranında inoküle edilmiştir. Sütler 37°C'de 18 saat fermentasyona bırakılarak fermente sütler üretilmiştir.



Şekil 3.1. Deneme Dondurmaların Üretim Akış Şeması

3.2.2.c. Dondurmaların üretimi

Dinlendirme işleminden sonra miksler soğuk hava deposundan alınarak daha önceden %10 oranında fermente edilmiş sütlerle karıştırılıp elektrikli mikser yardımıyla iyice homojenize edilip kesikli çalışan dondurma makinasında dondurmaya çevrilmiştir. Dondurma işlemi her bir kısım için 7 dakika sürmüştür ve bu süre aşılmamaya çalışılmıştır. Kontrol grubu dondurmalarla fermente süt yerine daha önceden belirtildiği

gibi aynı sıcaklıkta ısıtılma işlemi görmüş süt katılmıştır. İlk önce kontrol grubu dondurmalar daha sonra da probiyotik dondurmalar üretilmiştir. Çalışma ortamında sürekli alkol alevi yakılarak havadan, steril eldivenlerle çalışılarak çevreden kontaminasyon mümkün olduğunca önlenmeye çalışılmıştır. Dondurma makinasından çıkan dondurmalar mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal analizler için steril kaşıklarla steril cam kavanozlara ve duyusal analizler için bölmeli plastik kaplara alınıp ağzıları kapatılmış ve $-20\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmişlerdir.

3.2.3. Örnek alma ve örnekleri analize hazırlama

Dondurma mikslерinin analizleri için mikslер dondurma makinesine konulmadan önce, dondurma analizleri için ise dondurma makinasından çıktıktan sonra, steril 150-200 ml'lik cam kavanozlara numuneler alınmıştır. Miks için alınan numunelerin mümkün olduğunca hemen, dondurma örneklerinin ise depolama süresinin 1, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90. günlerinde her bir dondurma çeşidinden birer adet cam kavanoz açılarak steril dondurma kaşığıyla yeteri kadar numune alınıp mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal analizleri yapılmıştır. Duyusal değerlendirmeler için plastik bölmeli kutularda muhafaza edilen dondurmalar kullanılmıştır.

3.2.4. Dondurma üretiminde kullanılan süt ve kremada yapılan analizler

Çiğ süt ve kremanın kurumadde miktarı (%) gravimetrik metotla, yağ miktarı (%) Gerber metodu ile, % asitlik titrasyon metodu ile ve pH'sı birleşik elektrotlu dijital pH-metre (Hanna Instruments 211) ile belirlenmiştir (Kurt vd 1996). Protein miktarı (%), mikrokjeldahl cihazıyla ile belirlenen % azot miktarının 6,38 faktörü ile çarpılmasıyla bulunmuştur (Metin ve Öztürk 2002).

3.2.5. Dondurma üretiminde kullanılan süttozunda yapılan analizler

Süttozunun kurumadde miktarı (%) gravimetrik metotla, yağ miktarı (%) Gerber metodu ile, % asitlik titrasyon metodu ile belirlenmiştir (Kurt vd 1996). Süttozundaki azot

miktarı (%) mikrokjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir. Protein miktarı (%), belirlenen % azot miktarının 6,38 faktörü ile çarpılmasıyla bulunmuştur (Metin ve Öztürk 2002).

3.2.6. Dondurma mikslerinde yapılan fiziksel ve kimyasal analizler

3.2.6.a. Kurumadde tayini

Temiz alüminyum kurutma kapları kurutma dolabında 100°C'de yaklaşık 2 saat kurutulduktan sonra desikatörde soğutulmuştur. Darası alındıktan sonra 1-3 g örnek tartılmış ve 100±2°C'de kurutma dolabında sabit tartım ağırlığına ulaşınca kadar kurutulmuştur. Kurutma sonunda desikatörde soğutulduktan sonra örnekler tartılarak hesaplama % kurumadde miktarı bulunmuştur (Kurt vd 1996).

3.2.6.b. Yağ tayini

Dondurma mikslerinin yağ miktarı (%) Gerber metoduyla belirlenmiştir. Krema bütirometresine 10 ml sülfürik asit (H₂SO₄, d= 1,816), 5 ml dondurma miksi, 5 ml sıcak su (65°C) ve 1 ml amil alkol konulup lastik tıkaç sıkıca kapatılmış ve 30 sn süreyle dikkatlice alt üst edilmiştir. Bütirometreler santrifüje yerleştirilmiş ve 10-15 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Bütirometreler santrifüjden çıkarılıp 65°C'lik su banyosunda 5 dakika bekletilip okuma yapılmış ve düzeltme tablosundan yararlanarak gerçek yağ oranı belirlenmiştir (Metin ve Öztürk 2002).

3.2.6.c. Protein tayini

Dondurma mikslerinin azot miktarı (%) mikrokjeldahl yöntemiyle bulunmuştur. 2-3 g dondurma miksi mikrokjeldahl tüplerine konulmuş ve üzerine 15 ml kesif sülfürik asit ve 1 adet kjeldahl tablet eklenmiştir. Tüpler yakma ünitesine bağlanmış ve su trompu açılmıştır. Yakma yaklaşık 2 saat sürmüştür. Bu süre sonunda cihaz kapatılmış ve soğuması beklenmiştir. Soğuduktan sonra tüplerin üzerine 50 ml saf su eklenip tüpler

cihazın destilasyon düzeneğine bağlanmıştır. Cihaz 50 ml doymuş NaOH çözeltisini pompayla çekip tüplerin içerisine dağıtmıştır. Destilasyon düzeneğinin diğer ucuna %4'lük borik asit çözeltisinden 50 ml ve indikatör olarak %0,1'lik metil kırmızısı ve %0,1'lik brom kresol yeşili çözeltisinden 1-2 damla damlatılmış ve destilasyon 6 dakika sürecek şekilde cihaz ayarlanmıştır. Bu süre sonunda erlen içerisinde toplanan distilat 0,1 N HCl ile titre edilmiştir. Bulunan değer aşağıdaki formülde yerine konularak % protein hesaplanmıştır (Metin ve Öztürk 2002).

$$\% \text{ Protein} = [(0,14 \times (V_1 - V_2)) / m] \times 6,38$$

V_1 = Titrasyonda harcanan HCl çözeltisinin hacmi (ml)

V_2 = Şahit deneyde titrasyonda harcanan HCl çözeltisinin hacmi (ml)

m = Alınan örneğin ağırlığı (g)

3.2.6.d. % Asitlik tayini

Dondurma mikslерinin asitliği % laktik asit cinsinden Gürsel ve Karacabey (1998) tarafından verilen metoda göre yapılmıştır. 9 g dondurma miksi 9 ml suyla iyice karıştırıldıktan sonra üzerine %1'lik 1 ml fenolftaleyn ilave edilmiş ve 0,1 N NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir. Sabit pembemsi renk oluşunca titrasyona son verilmiştir. Harcanan 0,1 N NaOH miktarından aşağıdaki formüle göre % asitlik belirlenmiştir.

$$\% \text{ Asitlik} = (V \times 0,009 \times 100) / m$$

V = Harcanan 0,1 N NaOH çözeltisinin hacmi (ml)

m = Örneğin ağırlığı (g)

3.2.6.e. pH tayini

Dondurma mikslерinde pH tayini Coşkun (2005) tarafından verilen metoda göre yapılmıştır. Dondurma mikslерinin pH değeri birleşik elektrotlu pH metre (Hanna Instruments 211 model) kullanılarak direkt olarak ölçülmüştür. Ölçüm yapılmadan önce pH metre, pH'sı 4 ve 7 olan standart tampon çözeltilerle kalibre edilmiştir.

3.2.6.f. Viskozite tayini

Dondurma mikslerinin viskozitesi vizkozimetre ile (Poulten Selge Elee, Wickford, Essex UK) 6 nolu başlık kullanılarak 20 ve 50 rpm dönme hızında ölçülmüş ve sonuçlar cp cinsinden verilmiştir.

3.2.7. Dondurma örneklerinde yapılan kimyasal analizler

3.2.7.a. Kurumadde tayini

Dondurma örneklerinin kurumadde miktarı (%), dondurma mikslerinde belirtildiği gibi Kurt vd (1996)'ya göre belirlenmiştir.

3.2.7.b. Yağ tayini

Dondurma örneklerinin yağ miktarı (%) dondurma mikslerinde belirtilen yöntemle Metin ve Öztürk (2002) tarafından verilen metoda göre bulunmuştur.

3.2.7.c. Protein tayini

Dondurma örneklerinin protein miktarı (%), dondurma mikslerinde belirtilen yöntemle (Metin ve Öztürk 2002) tarafından verilen yönteme göre belirlenmiştir.

3.2.7.d. % Asitlik tayini

Dondurma örneklerinin titrasyon asitliği % laktik asit cinsinden Gürsel ve Karacabey (1998) tarafından verilen metoda göre yapılmıştır.

3.2.7.e. pH tayini

Dondurma örneklerinde pH tayini Coşkun (2005) tarafından verilen metoda göre yapılmıştır. Ölçüm yapılmadan önce dondurmalar 42°C'lik sıcak su banyosunda yumuşatılmış ve pH metrenin elektrodu eriyen dondurma numunesine daldırılmıştır. pH metrenin ekranındaki değer stabil hale gelinceye kadar beklenmiş ve direkt olarak pH okunmuştur. Dondurma örneklerinin pH değeri birleşik elektrotlu pH metre (Hanna Instruments 211) kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.7.f. Hacim artışı (overrun) tayini (%)

Dondurma örneklerinde overrun tayini Gürsel ve Karacabey (1998) tarafından verilen metoda göre yapılmıştır. Belirli hacimdeki bir kaba ilk önce miks konulup tartılmış daha sonra dondurma numunesi konulup tartılmıştır. Aşağıda verilen formülle overrun hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Overrun} = [(A_1 - A_2) / A_2] \times 100$$

A_1 = Miksin ağırlığı

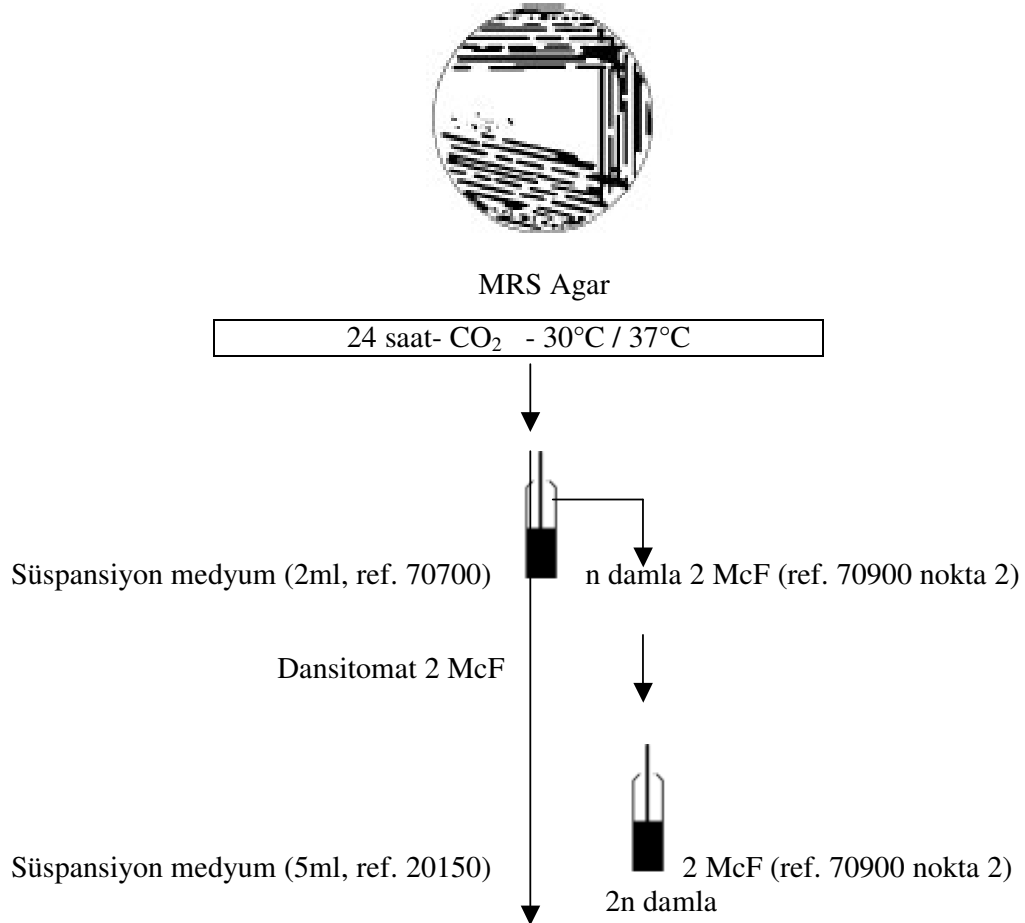
A_2 = Dondurmanın ağırlığı

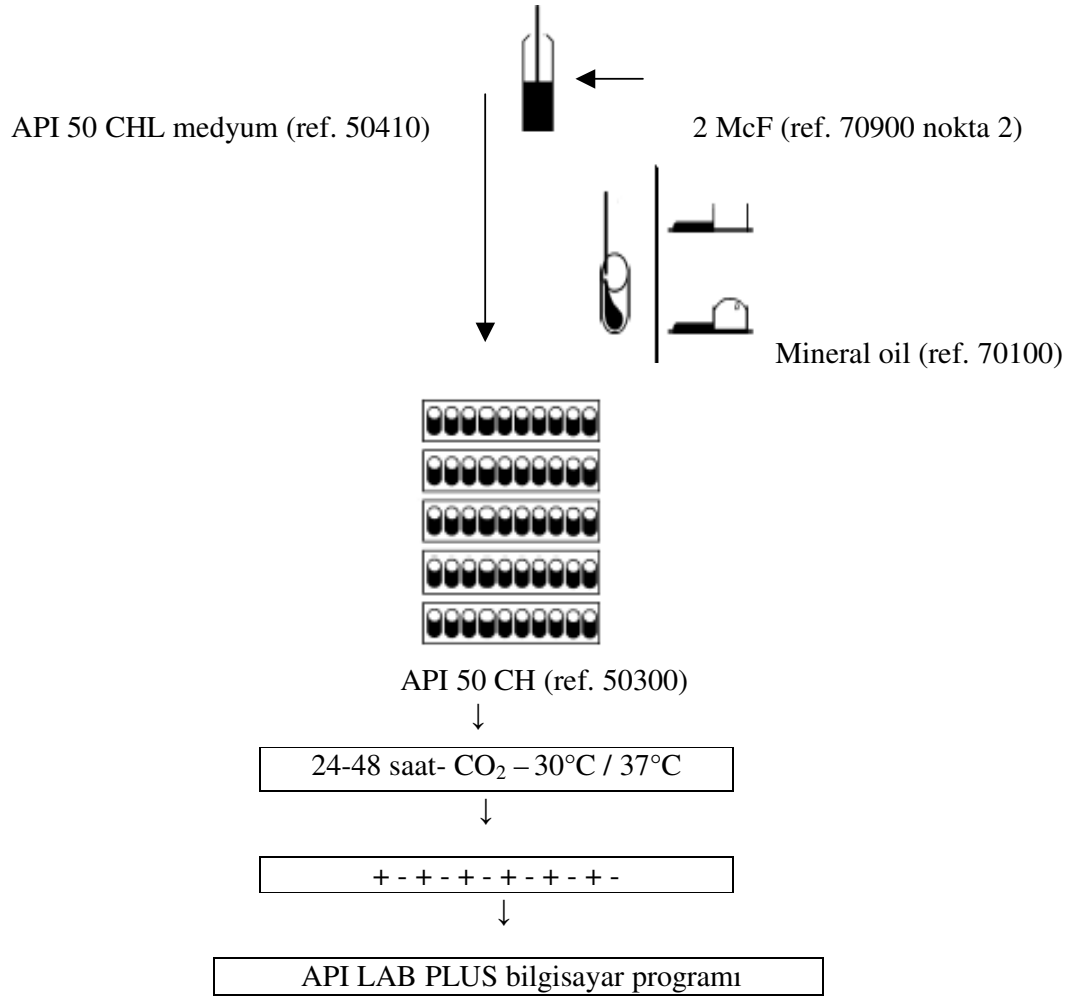
3.2.8. Mikroorganizmaların tanımlanması

3.2.8.a. *Lactobacillus acidophilus*'un tanımlanması

Üretilen probiyotik dondurmaların mikrobiyolojik analizleri sırasında petrilerde gelişen *L. acidophilus* kolonilerinin kesin olarak tanımlanması için API 50 CH (ref: 50300) (Bio-merieux, Marcy l'Etoile, France) tanımlama kiti kullanılmıştır. Bu amaçla MRS agar üzerinde gelişen 24 saatlik koloniler eküvyon çubuğuyla toplanıp 2 ml'lik süspansiyon medyum (ref. 70700) içerisinde 2 Mc Farland (ref. 70900) yoğunluk elde edilinceye kadar inoküle edilmiştir. Daha sonra 2 ml süspansiyon medyumdan 5 ml'lik süspansiyon medyuma (ref. 20150) tekrar 2 Mc Farland (ref. 70900) yoğunluk elde

edilinceye kadar damlatılmıştır (n damla). API 50 CHL (ref. 50410) besiyeri içerisine 5 ml'lik süspansiyon medyundan 2n damla damlatılmış ve API 50 CH (ref: 50300) stripindeki 50 kuyucuk bu besiyeriyile inoküle edilmiştir. İnokülasyon sırasında sadece tüpler doldurulmuş, küpüller ise 2-3 damla mineral yağla (ref. 70100) doldurulmuştur. Karbonhidratların fermente edilmesiyle asidik ortam oluşmakta ve buna bağlı olarak pH düşmektedir. pH düşmesine bağlı olarak indikatörler sayesinde renk değişiklikleri oluşmaktadır. 24 saatlik inkübasyon sonunda tüplerdeki mavi-morumsu renk negatif, sarı, sarı-yeşil renk oluşumu ise pozitif olarak değerlendirilmiş ve suşun biyokimyasal profili elde edilmiştir. Sonuçlar pozitif ve negatif şeklinde sonuç kağıdına işaretlenmiş ve tanımlama, bilgisayar programı yardımıyla elde edilmiştir. Şekil 3.2'de API 50 CH tanımlama yöntemi şematize edilmiştir.



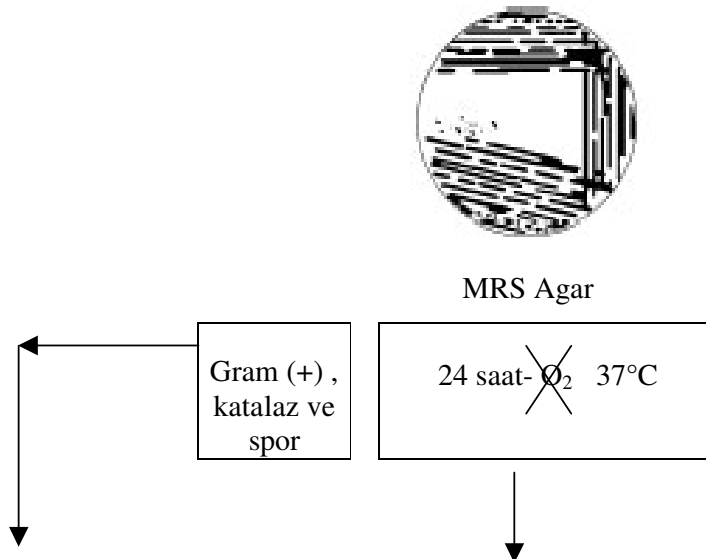


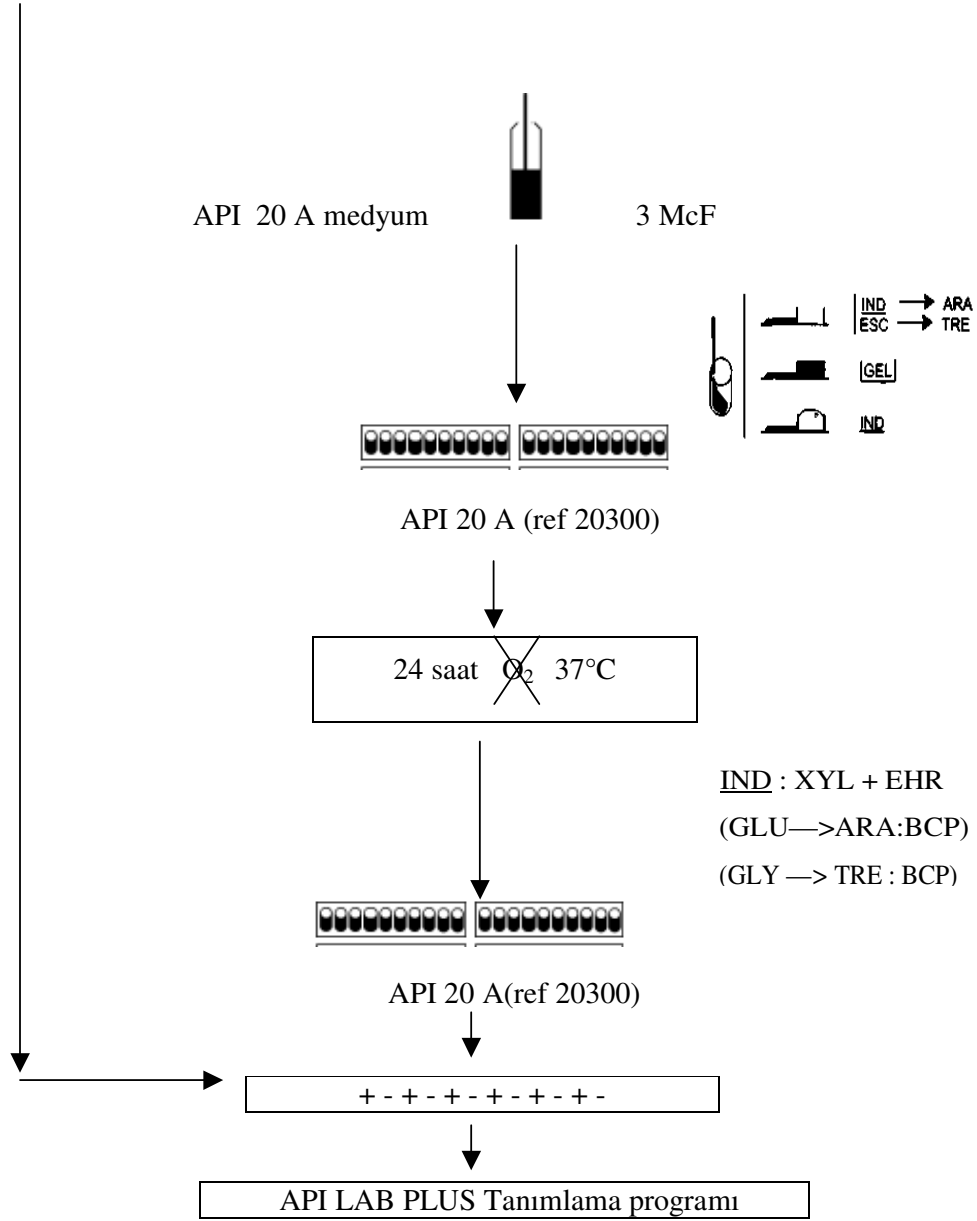
Şekil 3.2. API 50 CH Tanımlama Yönteminin Şeması

3.2.8.2. *Bifidobacterium bifidum*'un tanımlanması

Üretilen probiyotik dondurmaların mikrobiyolojik analizleri sırasında petrilerde gelişen *B. bifidum* kolonilerinin kesin olarak tanımlanması için API 20 A (ref: 20300) (Bio-merieux, Marcy l'Etoile, France) tanımlama testi kullanılmıştır. API 20 A stripi dehidrate substratlar içeren 20 mikro tüpten oluşmaktadır. MRS agar üzerinde gelişen 24 saatlik koloniler eküvyon çubuklarıyla toplanıp API 20A medyum içerisinde 3 Mc farland (ref. 70900) yoğunluk elde edilinceye kadar inoküle edilmiştir. Daha sonra API

20 A besiyeri içerisindeki bakteriyel süspansiyonun homojenize olması için vorteks ile yavaşça karıştırılmış ve pastör pipetiyle API 20 A (ref: 20300) (Bio-merieux, Marcy l'Etoile, France) mikro tüplere dağılmıştır. GEL testi için hem tüp hem küpül besiyeri ile doldurulmuş, IND testi için ise sadece tüp doldurulmuş küpül ise mineral yağla (ref. 70100) doldurulmuştur. Diğer kuyucukların ise sadece tüpleri doldurulmuş küpüller boş bırakılmıştır. Daha sonra hazırlanan strip koruyucu kabına konulmuş ve anaerobik ortamda 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda IND tüpündeki mineral yağ üzerine 1 damla XYL (ref. 70530) damlatılmış ve aplikatör çubuğuyla hafifçe karıştırıldıktan sonra 2-3 dakika beklenmiş ve 1 damla da EHR (ref. 70520) eklenmiş ve 5 dakika sonra okuma yapılmıştır. Oluşan kırmızı renk pozitif, renk değişiminin olmaması ise negatif olarak değerlendirilmiştir. ÜRE tüpü için herhangi bir reagent kullanılmamıştır. Tüpteki sarı- turuncu renk negatif, kırmızı renk ise pozitif olarak değerlendirilmiştir. GEL testi için tüpe bakılmış, siyah pigmentlerin dağılması pozitif dağılmaması ise negatif olarak değerlendirilmiştir. ESC testi için 365 nm dalga boyunda ışık veren U.V lamba (Merck, Germany) kullanılmıştır. Floresansın oluşumu negatif, aksi durum pozitif olarak değerlendirilmiştir. Diğer 14 tüp için BCP (ref. 70510) kullanılmıştır. Tüplere 1'er damla BCP (ref. 70510) damlatılmış ve tüp renginin morumsu renk alması negatif, sarı, sarı- yeşil renk alması pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif ve negatif sonuçlar sonuç kağıdına işaretlenmiş ve tanımlama, bilgisayar programı kullanılarak elde edilmiştir. Şekil 3.3'de API 20 A tanımlama yöntemi şematize edilmiştir





Şekil 3.3. API 20 A Tanımlama Yönteminin Şeması

3.2.9. Mikrobiyolojik analizler

Deneme miks ve dondurmaların mikrobiyolojik analizleri için 10 g örnek daha önceden hazırlanıp sterilize edilmiş $\frac{1}{4}$ kuvvetindeki 90 ml ringer çözeltisi içerisine steril kabin içerisinde tartılmıştır. Böylece homojenizat ve dolayısıyla ilk dilüsyon (10^{-1}) elde edilmiştir. 10^{-2} dilüsyon ise 10^{-1} lik dilüsyondan 1 ml alınıp içerisinde 9 ml ringer

çözültisi bulunan diğer tüpe eklenmesiyle yapılmıştır. Bu işleme istenen seyreltme oranına ulaşıncaya kadar devam edilmiştir. Ringer çözeltisi özellikle süt ürünlerinin analizlerinde tavsiye edilmektedir (Halkman ve Akçelik 2000). Dilüsyonlar hazırlandıktan sonra aşağıda belirtilen ekimler yapılmış ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir.

3.2.9.a. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı

Çiğ süt ve kremanın toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı için Plate Count Agar (PCA) (Merck) kullanılmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan daha önceden hazırlanan petrilere yayma yöntemiyle 0,1'er ml paralelli olarak ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan petri kutuları ters çevrilerek aerobik şartlarda 30°C'de 72 saat inkübe edildikten sonra gelişen kolonilerin sayımı yapılmıştır (Harrigan 1998).

3.2.9.b. *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayımı

Kontrol grubu miks ve dondurmalar ile tekli kültür kullanılarak üretilen miks, fermente süt ve dondurmalarındaki *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayımları için Man Rogosa Sharpe Agar (MRS) (Merck) besiyeri kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan daha önceden hazırlanmış petrilere yayma metoduna göre paralelli olarak 0,1'er ml ekim yapılmıştır. Petri kutuları, anaerobik ortamda (Anaerocult A sistem, Merck) 37°C'de 72 saat inkübe edildikten sonra katalaz testi yapılmış ve katalaz (-) koloniler sayılmıştır (Hagen and Narvhus 1999).

İkili kültür kullanılarak üretilen miks, fermente süt ve dondurmalarındaki *L. acidophilus* sayısının diferansiyel olarak belirlenmesi için 40 µg/ml seviyesinde kromojenik 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucopyranoside (X-Glu)(Fluka) ile katkılanan Ragosa agar (Merck) kullanılmıştır. Ragosa agar otoklavda sterilize edilmeyip su banyosunda hazırlanmıştır. Metodun prensibi *L. acidophilus*'un içerdiği β-D-glukozidaz enziminin X-Glu ile reaksiyonu sonucu mavi renk oluşturması esasına dayanmaktadır. *B. bifidum* ise renk değiştirmemektedir. Hazırlanan dilüsyonlardan 0,1'er ml yayma yöntemi

kullanılarak paralelli olarak ekilmiştir. Ekim yapılan petriler anaerobik ortamda (Anaerocult A, Merck) 37°C'de 72 saat inkübe edildikten sonra mavi renkli gelişen koloniler sayılmıştır (Kneifel and Pacher 1993).

İkili kültür kullanılarak üretilen miks ve dondurmalarındaki *B. bifidum* sayısının *L. acidophilus*'dan ayrı olarak belirlenmesi için BSM agar (Fluka 88517) kullanılmıştır. BSM agarın hazırlanmasında, çeşitli antibiyotikleri içeren 0,116 g BSM supplement (Fluka 83055) 5 ml steril suda çözündürülmüş ve daha önce steril edilip 55°C'ye soğutulan BSM agarın üzerine eklenmiştir. Bu agar petrilere döküldükten sonra kullanılıncaya kadar ışıktan korunarak buzdolabında saklanmıştır. *B. bifidum* BSM agar üzerinde kırmızımsı morumsu küçük koloniler oluşturarak gelişmekte, *L. acidophilus* ise supplement içerisindeki antibiyotikler sebebiyle gelişmemektedir. Hazırlanan dilüsyonlardan 0,1'er ml paralelli olarak ekilmiştir. Yayma metoduyla ekimi yapılan petri kutuları anaerobik ortamda (Anaerocult A, Merck) 37°C'de 72 saat inkübe edildikten sonra gelişen koloniler sayılmıştır (Anonim 2002).

3.2.9.c. Koliform grubu bakteri sayımı

Çiğ süt, krema, dondurma miksi ve deneme dondurmalarında koliform grubu bakterilerinin sayımı için Violet Red Bile Agar (VRBA) (Merck) besiyeri kullanılmıştır. Örneklerden hazırlanan uygun dilüsyonlardan steril petri kutularına 1'er ml aktarılıp üzerine eritilip 45°C'ye soğutulmuş VRBA besiyerinden yaklaşık 15 ml ilave edilerek karıştırılmıştır. Katılaşması için bir süre bekletilen petrilerin üzerine yaklaşık 5 ml daha VRBA (Merck) besiyeri ilave edilmiştir. Ekim yapılan petriler 30°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra çapı 0.5 mm ve daha büyük koyu kırmızı renkli koloniler sayılmıştır (Harrigan 1998).

3.2.9.d. Enterobacteriaceae sayımı

Çiğ süt, krema, dondurma miksi ve deneme dondurmalarında *Enterobacteriaceae* sayımı için Violet Red Bile Dekstroz (VRBD) agar (Merck) besiyeri kullanılmıştır.

Örneklerden hazırlanan uygun dilüsyonlardan steril petri kutularına 1'er ml aktarılıp üzerine eritilip 45°C'ye soğutulmuş VRBD besiyerinden yaklaşık 15 ml ilave edilerek yavaşça karıştırılmıştır. Katılaşması için bir süre bekletilen petrilerin üzerine yaklaşık 5 ml daha VRBD Agar ilave edilmiştir. Ekim yapılan petriler 30°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra çapı 1 mm ve daha büyük, rengi koyu kırmızıdan, gül kırmızısına kadar değişen koloniler sayılmıştır (Harrigan 1998).

3.2.9.e. Maya ve küf sayımı

Deneme dondurma ve mikslerde maya ve küf sayımı için Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck) besiyeri kullanılmıştır. Dondurma örneklerinin uygun dilüsyonlarından 0,1'er ml paralelli olarak, sterilize edilmiş ve pH'sı, steril %10'luk tartarik asit ile 3.5'e ayarlanmış PDA besiyerine yayma yöntemiyle ekilmiştir. İnkübasyon 22-25°C'de 4-5 gün süre ile yapılmış ve gelişen kolonilerin sayımı yapılmıştır (Özkaya ve Kuleaşan 2000 a).

3.2.9.f. Psikrotrofik bakteri sayımı

Deneme dondurmalarda psikrotrofik bakteri sayımı için PCA (Merck) besiyeri kullanılmıştır. Dondurma örneklerinin uygun dilüsyonlarından paralelli olarak 0.1'er ml PCA besiyerine yayma metoduyla ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 4,5°C'de 14 günlük inkübasyon sonunda sayılmıştır (Harrigan 1998).

3.2.9.g. *Staphylococcus aureus* sayımı

Deneme dondurma ve mikslerde *S. aureus* sayımı için Baird-Parker Agar (Fluka) besiyeri kullanılmıştır. Steril edilip 45-50 °C'ye soğutulan Baird-Parker Agar içerisine 50 ml/ 950 ml oranında Egg-yolk Tellurite Emulsion (Merck) katkısı ilave edilmiştir. Dondurma örneklerinin uygun dilüsyonlarından 0,1' er ml paralelli olarak, hazırlanmış besiyerine yayma yöntemiyle ekilmiştir. Ekimi tamamlanan petriler 24 saat süreyle 37°C 'de inkübe edilmiştir. Eğer gelişme olmazsa 24 saat daha inkübe edilmiştir. Baird-

Parker agarda gelişen tipik 1,0-1,5 mm çapında konveks siyah veya gri, parlak, düzgün çevresinde berrak bir zon bulunan koloniler işaretlenmiş, koagülaz testi yapılmış ve koagülaz (+) sonuç verenler *S. aureus* olarak sayılmıştır (Harrigan 1998).

3.2.9.h. *Salmonella* aranması

Deneme dondurma ve mikslerde *Salmonella* aranması Harrigan (1998) tarafından bildirilen yöntemine göre yapılmıştır. Ön zenginleştirme amacıyla 25 g dondurma örneği 225 ml tamponlanmış peptonlu su (Peptone Water Buffered, Merck) içerisine ilave edilerek homojenize edilmiş ve ardından 35-37°C'de 16-20 saat inkübe edilmiştir. Ön zenginleştirme işlemi ile zarar görmüş hücrelerin onarılması amaçlanmaktadır. ISO, IDF ve TSE ön zenginleştirme ortamı olarak tamponlanmış peptonlu su kullanımını önermektedirler (Özkaya ve Kuleaşan 2000 b).

Ön zenginleştirmenin ardından Rappaport Vassiliadis (RVS) Broth (Merck) ve Selenite Cystine Broth (CS) (Merck) selektif zenginleştirme besiyerlerine ön zenginleştirme kültüründen inokülasyon yapılmıştır. 10 ml 'lik RVS Broth (Merck) besiyerine 0,1 ml inokülasyon yapılarak 42-43°C 'de 24 saat süre ile, 100 ml CS Broth (Merck) besiyerine ise 10 ml ön zenginleştirme kültürü ilave edilerek 37°C'de 16-20 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işleminden sonra her iki selektif zenginleştirme kültüründen ayrı ayrı olmak üzere Brilliant Green Fenol Red (BPL) (Merck) Agar ve Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar (Merck) selektif katı besiyerlerine sürme yapılmış ve 35-37°C'de 24 saat, tipik koloni gelişmesi olmamış ise aynı sıcaklıkta 24 saat daha inkübasyona devam edilmiştir. BPL Agar besiyerinde *Salmonella* 'nın oluşturduğu tipik yuvarlak pembe kırmızı renkli etrafı parlak bir zon ile çevrili koloniler ve XLD Agar besiyerinde de *Salmonella* 'nın oluşturduğu tipik düzgün, siyah merkezli yuvarlak şeffaf kolonilerden ve atipik kolonilerden ayrı ayrı Nutrient Agara (Merck) ekilmiştir. Nutrient agarda gelişen kolonilerin Biolog kitiyle tanımlaması yapılmıştır (Harrigan 1998).

3.2.10. Asitliğe direnç denemeleri

L. acidophilus ve *B. bifidum*'un düşük pH'da canlı kalma yetenekleri Erkkila (2001), tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Her bir bakteri ayrı olarak MRS agarda 30°C'de 72 saat inkübe edildikten sonra, 1 koloni oluşturan birim steril özeyle alınarak 10 ml steril fizyolojik tuz çözeltisi içeren deney tüplerine eklenmiş ve karıştırılmıştır. Bu tüplerden alınan 0,5 ml bakteri süspansiyonu, pH değerleri 1; 2,5; 3,5 ve 5'e ayarlanan (8 M HCl kullanılarak) içerisinde 10 ml steril fosfat tamponlu tuz (PBS) çözeltisi bulunan tüplere aşılanmıştır. PBS, NaCl (9g/L), Na₂HPO₄x2H₂O (9 g/L)ve KH₂PO₄ (1,5 g/L) ile hazırlanmıştır. Bu şekilde hazırlana tüpler 37°C'de 0, 1, 2 ve 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. Canlı mikroorganizma sayısı belirtilen sürelerin sonunda MRS agara ekim yapıp, 30°C'de 48 saat inkübasyon sonunda belirlenmiştir.

3.2.11. Katalaz testi

Katalaz enzimi ortamdaki hidrojen peroksidi su ve oksijene ayrıştırmaktadır. Sıvı veya katı besiyerinde geliştirilen bakteri kültürüne H₂O₂ ilave edildiğinde serbest oksijenin gaz kabarcıkları şeklinde gözlenmesi H₂O₂ ayrıştırıldığını, dolayısıyla katalaz enziminin varlığını göstermektedir. Katalaz testi yapılırken, platin bir öze ile lam üzerine koloniden kültür alınıp üzerine bir damla %3'lük H₂O₂ (Merck) eklenmiştir. Gaz kabarcıklarının görülmesi katalaz (+), gaz kabarcıklarının görülmemesi ise katalaz (-) olarak değerlendirilmiştir (Pichhardt 2004).

3.2.12. Koagülaz testi

Bazı *Staphylococcus*' lar sıvı tavşan kanı plazmasını koagülaz enzimleriyle koagüle etme yeteneğine sahiptirler. Koagülaz testi yapılırken Bactident® Coagulase (Merck) test kiti kullanılmıştır. Egg-yolk Tellurite Emulsion katkısı ilave edilmiş Baird-Parker Agar üzerinde gelişen tipik 1,5-2,5 mm çapında, konveks çevresinde berrak bir zon bulunan parlak siyah veya gri renkli koloniler platin öze ile alınıp içerisinde Brain Hearth Infusion Broth (Merck, Germany) bulunan deney tüplerine eklenmiş ve 37°C'de

24 saat inkübe edilmiştir. Bu sırada EDTA içeren liyofilize tavşan kanı plazması 3 ml damıtık su içerisinde çözündürülmüş ve steril bir pipetle her bir steril deney tüpüne 0,3 ml dağıtılmıştır. Daha sonra inkübe olan Brain Heart Infusion Broth (Merck) dan 0,1 er ml alınıp her bir deney tüpüne eklenmiş ve 37°C’de inkübe edilmiştir. Her saatte tüplerde koagülasyon olup olmadığı kontrol edilmiştir. 4-6 saat sonra koagülasyon görülmeyen tüplerde inkübasyon 24 saat devam etmiştir. Tüpler çevrildiğinde görülebilen belirgin topaklanma koagülaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Pichhardt 2004).

3.2.13. Oksidaz testi

Oksidaz testi Bactident® Oxidase (Merck) test kiti ile yapılmıştır. Enerjilerini aerobik solunumla sağlayan bakteriler son elektron alıcısı olarak oksijeni kullanmaktadırlar. Sitokrom oksidaz, indirgenmiş sitokrom C’yi yükseltgeyerek kendisi inaktif forma dönüşmektedir. Sitokrom oksidaz ise elektronların oksijene transfer edilmesiyle tekrar yükseltgenmektedir. Moleküler oksijen varlığında elektronlar bu enzim sistemi vasıtasıyla çeşitli organik bileşenler üzerinden transfer edilebilmektedir. Bu maddeler arasında oksidaz testi bileşeni (N,N- Dimetil-1,4 phenylenediammonium chloride + naphtol-1) de bulunmaktadır. Oksidaz testinde steril platin bir özeyle test edilecek koloni alınmış ve Bactident® Oxidase test stripindeki reaksiyon bölgesine iyice dağıtılmıştır. Yaklaşık 1 dakika sonra renk değişiminin olup olmadığına bakılmıştır. Reaksiyon bölgesinde mavi–morumsu bir rengin oluşması oksidaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Anonim 2000 b).

3.2.14. Denemede çekilen fotoğraflar

Araştırmada kullanılan probiyotik kültürlerin fotoğrafları, basit boyama yapıldıktan sonra trinoküler Olympus BX 51 (Japan) mikroskobun foto tüpüne entegre edilmiş Olympus C 7070 (Japan) dijital fotoğraf makinasıyla 7 Megapiksel (MP) çözünürlükte çekilmiştir. Petrilerde gelişen kolonilerin ve API striplerinin fotoğrafları ise Ricoh Caplio (Japan) dijital fotoğraf makinasıyla 3,2 Mp çözünürlükte çekilmiştir.

3.2.15. Dondurmalarda yapılan duyusal analizler

Deneme probiyotik dondurmaların duyusal değerlendirilmesi Gürsel ve Karacabey (1998), Roland *et al.* (1999), Chung *et al.* (2003) ve Atsan (2004) tarafından verilen kriterler dikkate alınarak tarafımızdan hazırlanan hedonik tip skala kullanılarak, Gıda Mühendisliği Bölümü elemanlarından oluşturulan 8 kişilik panel grubu tarafından yapılmıştır. Duyusal değerlendirmede probiyotik bakterilerle üretilen dondurmanın renk, tekstür, koku, şeker oranı, krema tadı, fermente süt tadı, yabancı tat, ağızda bıraktığı his ve genel kabul edilebilirlik üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Probiyotik dondurmanın duyusal değerlendirilmesinde kullanılan hedonik tip skala örneği Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Deneme Dondurma Örneklerinin Duyusal Değerlendirilmesinde Kullanılan Skala

Özellikler	9: en iyi, 1: en kötü puandır							
	ÖRNEKLER							
Renk								
Genel tekstür								
Koku								
Şeker oranı								
Krema tadı								
Fermente süt tadı								
Yabancı tat								
Ağızda bıraktığı his								
Genel kabul edilebilirlik								
Panelistin Adı ve Soyadı:					Tarih:			

3.2.16. İstatistiksel analizler

Araştırma sonucunda elde edilen veriler tablolar halinde verilmiştir. Belirlenen değerler Tam Şansa Bağlı Bloklar Deneme Desenine uygun olarak MSTAT-C paket programında varyans analizine tabi tutulmuş, önemli bulunan varyasyon kaynaklarına Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Önemli bulunan interaksiyonlar şekil üzerinde gösterilmiştir (Yıldız ve Bircan 1991).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Dondurma Üretiminde Kullanılan Çiğ Süt ve Pastörize Kremanın Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri

Probiyotik dondurma üretiminde kullanılan çiğ inek sütü ve pastörize kremaya ait bazı kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları ortalaması Çizelge 4.1’de verilmiştir. Titrasyon asitliği ve pH değerleri çiğ sütün taze olduğunu göstermektedir. Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği’nde (Anonim 2000a) inek sütlerinin en az %12 kurumadde içermesi, yağ oranının en az %3,5 olması, protein oranının en az %2,8 ve asitliğin ise laktik asit cinsinden %0,14- 0,20 arasında olması gerektiği bildirilmiştir.

Çizelge 4.1. Deneme Dondurma Üretiminde Kullanılan Çiğ Süt ve Kremanın Bazı Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri

İncelenen Özellikler	Çiğ süt	Pastörize krema
Kurumadde (%)	11,59	62,41
Yağ (%)	3,6	55,0
Protein (%)	3,47	-
Asitlik (% laktik asit)	0,18	0,22
pH	6,58	6,09
Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı (TAMB) (log kob/ml, g)	6,10	4,85
Koliform grubu bakteri sayısı (log kob/ml, g)	5,55	<10
<i>Enterobacteriaceae</i> sayısı (log kob/ml, g)	4,89	<10
Maya ve küf sayısı (log kob/ml, g)	4,3	<100
<i>Staphylococcus aureus</i> sayısı (log kob/ml, g)	<100	<100

Bulunan sonuçlardan, dondurma üretiminde kullanılan çiğ inek sütünün, belirtilen kimyasal özellikler bakımından kurumadde dışında Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği’ne (Anonim 2000a) uygun olduğu bulunmuştur.

Dondurma üretiminde kullanılan pastörize kremanın kimyasal özellikler bakımından Türk Gıda Kodeksi Krema ve Kaymak Tebliği’ne (Anonim 2003) uygun olduğunu

görülmektedir. İçerdiği ortalama %55 yağ oranıyla Türk Gıda Kodeksi Krema ve Kaymak Tebliği'ne (Anonim 2003) göre tam yağlı krema sınıfına girdiği tespit edilmiştir. Kremaların %0,22'lik asitliği ise Türk Gıda Kodeksi Krema ve Kaymak Tebliği'nin (Anonim 2003) izin verdiği sınırlar içerisinde.

Dondurma üretiminde kullanılan pastörize kremanın mikrobiyolojik özellikler bakımından da Türk Gıda Kodeksi Krema ve Kaymak Tebliği'ne (Anonim 2003) uygun olduğunu görülmektedir. İçerdiği ortalama TAMB sayısı 4,85 log kob/g, TS-1864 Krema Standardı'nda (Anonim 1975) izin verilen sınırlar içerisinde. Türk Gıda Kodeksi Krema ve Kaymak Tebliği'nde (Anonim 2003), kremada TAMB sayısı için herhangi bir sınır belirtilmemiştir.

4.2. Dondurma Üretiminde Kullanılan Süt Tozunun Bazı Özellikleri

Deneme dondurma üretiminde kullanılan süt tozuna ait bazı kimyasal analiz sonuçları ortalaması Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Deneme Dondurma Üretiminde Kullanılan Süt Tozunun Bazı Kimyasal Özellikleri

İncelenen Özellikler	Miktar (%)
Kurumadde	95,25
Yağ	1,25
Protein	32,78
Asitlik (% laktik asit cinsinden)	0,14

Dondurma üretiminde kullanılan süt tozunun kurumadde ve yağ oranı ile % asitlik değeri bakımından Türk Gıda Kodeksi Koyulaştırılmış Süt ve Süttozu Tebliği'ne (Anonim 2005) uygun olduğu ve denemede kullanılan süt tozunun yağsız süt tozu sınıfına girdiği saptanmıştır.

4.3. Fermente Sütlerde Yapılan Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Deneme dondurma mikslerine %10 oranında ilave edilen fermente sütlerde belirlenen *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısı ortalamaları Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Fermente Sütlerde Bulunan *L. acidophilus* ve *B. bifidum* Sayısı Ortalamaları (log kob/g)

Bakteri cinsi	Tekli kültür	Karışık kültür	Ortalama
<i>L. acidophilus</i>	8,42	8,25	8,34
<i>B. bifidum</i>	8,11	8,02	8,07

Dondurma mikslerine ilave edilen fermente sütlerdeki *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayılarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.4’de verilmiştir. Anavaryasyon kaynaklarından bakteri cinsinin fermente sütlerdeki *L. acidophilus* sayısı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Bakteri cinsinin, *B. bifidum* sayısı üzerindeki etkisi ise istatistiki olarak önemsiz ($p>0,05$) olmuştur (Çizelge 4.4). Bu bulgu, *L. acidophilus*’un gelişmesinin *B. bifidum* tarafından olumsuz etkilendiğini göstermektedir.

Çizelge 4.4. Fermente Sütlerde Bulunan *L. acidophilus* ve *B. bifidum* Sayılarına Ait Varyans Analiz Sonuçları (log kob/g)

Varyasyon kaynakları	SD	<i>L. acidophilus</i>		<i>B. bifidum</i>	
		KO	F değeri	KO	F değeri
Bloklar	1	0.006	32.653	0.001	0.391
Bakteri cinsi (A)	1	0.046	235.842*	0.022	6.985
Hata	1	0.000		0.003	
Genel	3	0.018		0.009	

* $p<0,05$ seviyesinde önemli

Bakteri cinsi değişkenine ait *L. acidophilus* sayısı ortalamaları Çizelge 4.5’de verilmiştir. Ortalama sayısı iki adet olduğundan çoklu karşılaştırma testi yapılmamış sadece ortalamalar verilmiştir.

Çizelge 4.5. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait *L. acidophilus* Sayısı Ortalamaları (log kob/ml)*

Bakteri cinsi	n	<i>L. acidophilus</i> sayısı
Tekli kültür	4	8,420 a
İkili kültür	4	8,205 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,05)

Hagen and Narvhus (1999), probiyotik dondurmada kullandıkları fermente sütlerde 12 saatlik inkübasyon sonunda *L. acidophilus* sayısının 8,85 log kob/ml, *B. bifidum* sayısının ise 8,75 log kob/ml seviyesinde olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmada *L. acidophilus* ve *B. bifidum* için bulduğumuz sayılar bu değerlerden daha düşük olmuştur.

4.4. Dondurma Mikslerinde Yapılan Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları

Dondurma üretimi için hazırlanan mikslerde belirlenen bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları toplu olarak Çizelge 4.6'da görülmektedir.

Çizelge 4.6. Dondurma Mikslerine Ait Bazı Analiz Sonuçları

İncelenen Özellikler	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> 'lu		<i>B. bifidum</i> 'lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'lu	
	% 5 krema	% 10 krema	% 5 krema	% 10 krema	% 5 krema	% 10 krema	% 5 krema	% 10 krema
Kurumadde (%)	39,82	41,06	39,22	41,45	38,98	41,49	39,35	41,19
Yağ (%)	5,92	8,50	5,93	8,65	6,08	8,60	5,95	8,58
Protein (%)	5,58	5,44	5,60	5,46	5,64	5,50	5,62	5,43
Asitlik (%)	0,33	0,35	0,51	0,54	0,38	0,40	0,45	0,44
pH Değeri	6,35	6,29	5,73	5,71	6,27	6,23	5,80	5,78
Viskozite 20 rpm (c.p)	21350	21850	21650	22050	22250	22550	21600	21950
Viskozite 50 rpm (c.p)	10350	10650	10200	10600	11200	11200	10100	11100

4.4.1. Kurumadde miktarı (%)

Dondurma mikslerinde en düşük kurumadde miktarı (%38,98) %5 krema katkılı *B. bifidum* içeren dondurma miksinde, en yüksek kurumadde miktarı ise (%41,49) %10

krema katkılı *B. bifidum* içeren dondurma miksinde bulunmuştur (Çizelge 4.6). Deneme dondurma mikslerinin kurumadde miktarlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Dondurma Mikslerinde Belirlenen Kurumadde Miktarlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F Değeri
Bloklar	1	1.015	1.015	4.748
Krema katkısı (A)	1	15.308	15.308	71.603**
Bakteri cinsi (B)	3	0.094	0.031	0.147
A x B	3	0.914	0.305	1.425
Hata	7	1.496	0.214	
Genel	15	18.827	1.255	

** $p < 0,01$ seviyesinde önemli

Anavaryasyon kaynaklarından krema katkısının, dondurma mikslerinin kurumadde miktarı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur. Krema ilavesi doğal olarak kurumaddede artış meydana getirmiştir. Probiyotik bakterilerin dondurma mikslerinin kurumadde miktarı üzerindeki etkisi ise istatistiki olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.7). Krema katkısı ortalama sayısı sadece iki adet olduğundan Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmamıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Krema Katkısı Değişkenine Ait Kurumadde Miktarı Ortalamaları *

Krema katkısı	n	Kurumadde miktarı (%)
%5 krema katkılı	8	39,34 a
%10 krema katkılı	8	41,30 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,01$)

4.4.2. Yağ miktarı (%)

Çizelge 4.6’dan da görülebileceği gibi, mikslerde en düşük yağ miktarı (%5,92), %5 krema katkılı kontrol grubu dondurma miksinde, en yüksek yağ miktarı ise (%8,65) %10 krema katkılı *L. acidophilus* içeren dondurma miksinde bulunmuştur. Deneme

dondurma mikslarının % yağ miktarlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Dondurma Mikslerinde Bulunan % Yağ Miktarlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.001	0.001	0.226
Krema katkısı (A)	1	27.301	27.301	9863.452**
Bakteri cinsi (B)	3	0.032	0.011	3.914
A x B	3	0.022	0.007	2.634
Hata	7	0.019	0.003	
Genel	15	27.375	1.825	

** p<0,01 seviyesinde önemli

Anavaryasyon kaynaklarından krema katkısının, deneme dondurma mikslarının % yağ miktarı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli (p<0,01) bulunmuştur. Bu sonuç zaten beklenen bir durumdur. Probiyotik bakterilerin dondurma mikslarının % yağ miktarı üzerindeki etkisi ise istatistiki olarak önemsiz (p>0,05) bulunmuştur (Çizelge 4.9). Krema katkısı ortalama sayısı sadece iki adet olduğundan Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmamış, ortalamalar verilmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Krema Katkısı Değişkenine Ait % Yağ Miktarı Ortalamaları *

Krema katkısı	n	Yağ miktarı (%)
%5 krema katkılı	8	5,97 a
%10 krema katkılı	8	8,59 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

4.4.3. Protein miktarı (%)

Deneme dondurma mikslarında bulunan protein miktarları Çizelge 4.6’da verilmiştir. Çizelgeden de görülebileceği gibi, en düşük protein miktarı (%5,43), %10 krema katkılı *L. acidophilus*+ *B. bifidum* içeren dondurma miksinde, en yüksek protein miktarı ise (%5,64), %5 krema katkılı *B. bifidum* içeren dondurma miksinde bulunmuştur. Deneme

dondurma mikslerinin protein miktarlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.11’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. Dondurma Mikslerinde Bulunan Protein Miktarlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.008	0.008	2.898
Krema katkısı (A)	1	0.092	0.092	34.636**
Bakteri cinsi (B)	3	0.009	0.003	1.106
A x B	3	0.002	0.001	0.261
Hata	7	0.018	0.003	
Genel	15	0.128	0.009	

** p<0,01 seviyesinde önemli

Anavaryasyon kaynaklarından krema katkısının, deneme dondurma mikslerinin protein miktarı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli (p<0,01) bulunmuştur. Krema katkısı ortalama sayısı iki adet olduğundan Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmamış sadece ortalamalar verilmiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Krema Katkısı Değişkenine Ait Protein Miktarı Ortalamaları *

Krema katkısı	n	Protein miktarı (%)
%5 krema katkılı	8	5,51 a
%10 krema katkılı	8	5,46 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

Probiyotik bakterilerin, deneme dondurma mikslerinin protein miktarı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemsiz (p>0,05) bulunmuş ve incelenmemiştir (Çizelge 4.11).

4.4.4. Asitlik değeri (%)

Deneme dondurma mikslerinin titrasyon asitliği % laktik asit cinsinden hesaplanmış olup sonuçlar Çizelge 4.6’da verilmiştir. Buna göre, en düşük asitlik değeri (%0,33), %5 krema katkılı kontrol grubu dondurma miksinde, en yüksek asitlik değeri ise (%0,54),

%10 krema katkılı *L. acidophilus* içeren dondurma miksinde bulunmuştur. Deneme dondurma mikslerinin asitlik değerlerine uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Dondurma Mikslerinde Belirlenen % Asitlik Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.001	0.001	3.438
Krema katkısı (A)	1	0.001	0.001	5.952*
Bakteri cinsi (B)	3	0.074	0.025	150.333**
A x B	3	0.001	0.000	1.330
Hata	7	0.001	0.000	
Genel	15	0.077	0.005	

* $p < 0,05$ seviyesinde, ** $p < 0,01$ seviyesinde önemli

Dondurma mikslerinin asitlik değeri üzerine probiyotik bakteri cinsinin etkisi istatistiki olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuş, uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.14’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.14. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait % Asitlik Değerleri Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Bakteri cinsi	n	Asitlik değeri (%)
Kontrol	8	0,34 a
<i>L. acidophilus</i>	8	0,52 c
<i>B. bifidum</i>	8	0,40 ab
<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	8	0,44 bc

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,01$)

Çizelgeden de görülebileceği gibi en düşük % asitlik değeri kontrol grubu dondurma mikslerinde görülmüş, bunu tekli *B. bifidum* içeren dondurmalar takip etmiştir. Bu iki tip dondurmanın % asitlik değerleri arasında bir miktar fark olmasına rağmen değerler istatistiki olarak birbirine benzer bulunmuştur (Çizelge 4.14). Tekli *L. acidophilus* katkılı mikslerin asitlik değerleri diğer tüm mikslerin asitlik değerlerinden yüksek bulunmuş, bu dondurma mikslerini *L. acidophilus*+ *B. bifidum* içeren dondurma

miksleri takip etmiştir. Bu iki dondurma miksini asitlik değerleri arasında da bir miktar fark olmasına rağmen saptanan değerler yine istatistiki olarak birbirine benzer olmuştur ($p<0,01$). Bu durum *L. acidophilus*'un *B. bifidum*'a göre daha fazla asit oluşturması ve aside karşı daha dayanıklı olmasından ileri gelmektedir. Alamprese *et al.* (2002), dondurma mikslerine eklenen *L. johnsonii* La1'in mikslerin titrasyon asitlikleri üzerine etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise bakterilerin, mikslerin asitlik değerleri üzerinde etkisinin istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) olduğu bulunmuştur. Atsan (2004), kontrol grubu dondurma mikslerindeki % asitlik değerinin ortalama %0,405 olduğunu tespit etmiştir. Araştırmada kontrol grubu dondurma mikslerinde bulduğumuz asitlik ise (%0,34) bu değerden daha düşük olmuştur.

Anavaryasyon kaynaklarından krema katkısının, dondurma mikslerinin asitlik değerleri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) bulunmuş (Çizelge 4.13), krema katkısına ait asitlik değeri ortalamaları Çizelge 4.15'de verilmiştir.

Çizelge 4.15. Krema Katkısı Değişkenine Ait % Asitlik Değerleri Ortalamaları *

Krema katkısı	n	Asitlik değeri (%)
%5 krema katkılı	8	0,431 a
%10 krema katkılı	8	0,416 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

Krema ilavesi dondurma mikslerin asitliklerinde hafif bir artışa neden olmuştur. Bu durumun kremaların süte göre daha asidik olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.4.5. pH değeri

Dondurma miks örneklerinin pH değerlerine ait sonuçlar toplu olarak Çizelge 4.6'da görülmektedir. Çizelgeden de görülebileceği gibi, en düşük pH değeri (5,71), %5 krema katkılı *L. acidophilus* içeren dondurma miksinde, en yüksek pH değeri ise (6,35), yine %5 krema katkılı kontrol grubu dondurma miksinde bulunmuştur. Deneme dondurma

mikslerinin asitlik değerlerine uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.16’da verilmiştir.

Çizelge 4.16. Dondurma Mikslerinde Belirlenen pH Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.016	0.016	10.405*
Krema katkısı (A)	1	0.005	0.005	3.314
Bakteri cinsi (B)	3	1.140	0.380	248.102**
A x B	3	0.001	0.000	0.153
Hata	7	0.011	0.002	
Genel	15	1.173	0.078	

* p<0,05 seviyesinde, ** p<0,01 seviyesinde önemli

Varyans analiz tablosundan da görülebileceği gibi bakteri cinsinin, deneme dondurma mikslerinin pH değeri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli (p<0,01) bulunmuş ve uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.17’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.17. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait pH Değeri Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Bakteri cinsi	n	pH Değeri
Kontrol	8	6,32 a
<i>L. acidophilus</i>	8	5,72 b
<i>B. bifidum</i>	8	6,25 a
<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	8	5,79 b

* Farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

Çizelgeden de görülebileceği gibi *B. bifidum* içeren dondurma mikslerinin pH’sı kontrol grubundan daha düşük olmasına karşın, değerler istatistiki olarak birbirinden farksızdır. *L. acidophilus* ise mikslerin pH’sını önemli düzeyde düşürmüştür. Tekli *L. acidophilus* içeren mikslerin pH değeri, *L. acidophilus*+ *B. bifidum* karışımı içeren mikslerin pH değerinden daha düşük bulunmuş, ancak değerler istatistiki olarak birbirinden farksız bulunmuştur (p<0,01) (Çizelge 4.17). Alamprese *et al.* (2002), *L. johnsonii* La1 suşunun, mikslerin pH değerlerini düşürmesine karşın bu düşüşün istatistiki olarak

önemli olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise *L. acidophilus* ilavesinin mikslerin pH değeri üzerinde etkisinin istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) olduğu bulunmuştur.

Kontrol grubu dondurma mikslerinde ortalama pH değerini Christiansen *et al.* (1996) 6,60, Alamprese *et al.* (2002) 6,58-6,64 aralığında ve Dağdemir vd (2004) ise 6,19 olduğunu saptamışlardır. Bu araştırmada ise kontrol grubu dondurma mikslerinin pH değeri ortalaması 6,32 olarak bulunmuştur.

4.4.6. Viskozite değeri

Dondurma mikslerinin viskozite değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çizelgeden de görülebileceği gibi, en düşük viskozite değeri (10100 cp) 50 rpm'de %10 krema katkılı *L. acidophilus*+ *B. bifidum* içeren mikste, en yüksek viskozite değeri ise (22550 cp) 20 rpm'de %10 krema katkılı *B. bifidum* içeren mikste ölçülmüştür. Deneme dondurma mikslerinin dönme hızına bağlı olarak bulunan viskozite değerlerine uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.18 ve 4.19'da verilmiştir.

Çizelge 4.18. Dondurma Mikslerinin Viskozite Değerlerine (cp) Ait Varyans Analiz Sonuçları (20 rpm)

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	1.380.625.000	1.380.625.000	19.549**
Krema katkısı (A)	1	600.625.000	600.625.000	8.504*
Bakteri cinsi (B)	3	1.431.875.000	477.291.667	6.758*
A x B	3	21.875.000	7.291.667	0.103
Hata	7	494.375.000	70.625.000	
Genel	15	3.929.375.000	261.958.333	

* $p<0,05$ seviyesinde, ** $p<0,01$ seviyesinde önemli

Çizelgeden de görülebileceği gibi anavaryasyon kaynaklarından blokların 20 rpm dönme hızında viskozite değerleri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.18). Bu durum deneme mikslerinin hazırlanması ve üretimin farklı aşamalarında yapılan uygulamaların tekrerrürler arasında bazı farklılıklar göstermesinden kaynaklanmış olabilir.

Çizelge 4.19. Dondurma Mikslerinin Viskozite Değerlerine (cp) Ait Varyans Analiz Sonuçları (50 rpm)

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	1.322.500.000	1.322.500.000	12.062*
Krema katkısı (A)	1	722.500.000	722.500.000	6.590*
Bakteri cinsi (B)	3	1.550.000.000	516.666.667	4.712*
A x B	3	527.500.000	175.833.333	1.604
Hata	7	767.500.000	109.642.857	
Genel	15	4.890.000.000	326.000.000	

*p<0,05 seviyesinde önemli

Anavaryasyon kaynaklarından krema katkısı (A) ve bakteri cinsinin (B), 20 ve 50 rpm dönme hızlarında dondurma mikslerinin viskozite değerleri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli (p<0,05) bulunmuştur (Çizelge 4.18 ve 4.19).

Bakteri cinsi değişkenine ait viskozite değerlere uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.20’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.20. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Viskozite Değerlerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları (cp) *

Bakteri cinsi	n	Viskozite (20 rpm)	Viskozite (50 rpm)
Kontrol	8	21600 a	10500 a
<i>L. acidophilus</i>	8	21850 ab	10400 a
<i>B. bifidum</i>	8	22400 b	11200 b
<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	8	21775 ab	10600 a

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

Çizelgeden de izlenebileceği gibi tekli *B. bifidum* içeren dondurma miksinin viskozitesi her iki dönme hızında da diğer tüm mikslerin viskozitesinden yüksek bulunmuştur. Bu dondurma miksinin viskozite değeri, 50 rpm dönme hızında diğer mikslerde belirlenen viskozite değerlerinden istatistiki olarak farklı (p<0,01) olmuştur. *L. acidophilus* içeren mikslerin viskozitesi kontrol grubu mikslere göre biraz yüksek olmasına karşın (20 rpm), değerlerin istatistiki olarak birbirine benzer ve biraz düşük olmasına karşın (50 rpm) birbirinin aynı olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.20). %10 krema katkılı mikslerin viskozite değerleri %5 krema katkılı mikslerin viskozite değerlerinden daha yüksek

olmuştur. Alamprese *et al.* (2002) yağ oranının viskoziteyi önemli oranda artırdığını bildirmişlerdir. Bu araştırmada da yağ oranı viskozite üzerine benzer etkide bulunmuştur. Aynı araştırmacılar *L. johnsonii* La1'in mikslerin viskozitesi üzerinde etkisinin önemli olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmada da özellikle *B. bifidum*'un deneme mikslerinin viskozitesini önemli oranda artırdığı bulunmuştur. Bu sonucun LAB'nin oluşturduğu ekzopolisakkaritlerden kaynaklandığı düşünülebilir.

4.5. Dondurma Mikslerine Ait Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Deneme dondurma mikslerinde belirlenen bazı mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 4.21'de toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 4.21. Dondurma Mikslerine Ait Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları (log kob/g)

İncelenen Özellikler	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> 'lu		<i>B. bifidum</i> 'lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'lu	
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema
<i>L. acidophilus</i> sayısı	<100	<100	7,517	7,341	<100	<100	7,316	7,171
<i>B. bifidum</i> sayısı	<100	<100	<100	<100	7,083	7,091	7,011	6,926
Koliform grubu bakteri sayısı	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Enterobacteriaceae</i> sayısı	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Maya ve küf sayısı	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100
<i>S. aureus</i> sayısı	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

4.5.1. *Lactobacillus acidophilus* sayısı

Tekli kültürle üretilen dondurma mikslerindeki *L. acidophilus* sayısının belirlenmesi amacıyla MRS agar, karışık kültürle üretilen dondurmalarda *L. acidophilus* sayısının diferansiyel olarak belirlenmesi amacıyla X-Glu agar kullanılmıştır.

Fermente sütlerin dondurma mikslerine %10 (v/v) oranında katılmasıyla *L. acidophilus* sayısı yaklaşık 1 log birim azalmıştır. Mikslerdeki en yüksek *L. acidophilus* sayısı (7,517 log kob/g), %5 krema katkılı tekli kültürle üretilen mikste; en düşük sayı ise (7,171 log kob/g), %10 krema katkılı *L. acidophilus*+ *B. bifidum* ihtiva eden mikste tespit edilmiştir. Ortalama *L. acidophilus* sayısı ise 7,336 log kob/g olmuştur.

Araştırmada, mikslerde bulunan *L. acidophilus* sayıları Hekmat and McMahon (1992) ve Christiansen *et al.* (1996) tarafından bulunan sayılardan düşük, Hagen and Narvhus (1999) tarafından bulunan sayılara yakın olmuştur. Bu durum kullanılan bakterilerin suş farkından veya uygulanan işlemlerden kaynaklanmış olabilir.

Deneme dondurma mikslerinde belirlenen *L. acidophilus* sayılarına (log kob/g) ait varyans analiz sonuçları  izelge 4.22’de verilmiştir.

Çizelge 4.22. Dondurma Mikslerinde Belirlenen *L. acidophilus* Sayılarına Ait Varyans Analiz Sonuçları (log kob/g)

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.104	0.104	10.878*
Krema katkısı (A)	1	0.052	0.052	5.370
Bakteri cinsi (B)	1	0.068	0.068	7.125
A x B	1	0.000	0.000	0.050
Hata	3	0.029	0.010	
Genel	7	0.254	0.036	

* p<0,05 seviyesinde önemli

Çizelgeden görülebileceği gibi ( izelge 4.22), anavaryasyon kaynaklarından blokların *L. acidophilus* sayısı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli (p<0,05) bulunmuştur. Bu durum, dondurma mikslerine ilave edilen fermente sütlerdeki bakteri sayısının her tekerrürde sabit tutulamamasından kaynaklanmış olabilir.

Anavaryasyon kaynaklarından krema katkısının, deneme dondurma mikslerindeki *L. acidophilus* sayısı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemsiz (p>0,05) bulunmuştur. Bu sonuç artan krema oranının bakterilerin canlı kalması üzerinde etkisinin olmadığını

göstermektedir. *L. acidophilus*+ *B. bifidum* karışımıyla üretilen mikslerdeki canlı *L. acidophilus* sayısı sadece tekli *L. acidophilus* ile üretilen mikslerdeki sayıdan daha düşük olmasına rağmen belirlenen sayılar arasındaki farklılık istatistiki olarak önemsiz ($p>0,05$) çıkmıştır.

4.5.2. *Bifidobacterium bifidum* sayısı

Tekli kültürle üretilen dondurma mikslesindeki *B. bifidum* sayısının belirlenmesi amacıyla MRS agar, karışık kültürle üretilen dondurmalarda *B. bifidum* sayısının selektif olarak belirlenmesi amacıyla BSM agar kullanılmıştır.

Fermente sütlerin dondurma mikslerine %10 (v/v) oranında katılmasıyla *B. bifidum* sayısı 1 log kob birim azalmıştır. Çizelge 4.21’den de görülebileceği gibi, en yüksek *B. bifidum* sayısı (7,091 log kob/g), %10 krema katkılı tekli kültürle üretilen mikste, en düşük sayı ise (6,926 log kob/g), %10 krema katkılı ikili kültür ihtiva eden mikste tespit edilmiştir. Ortalama *B. bifidum* sayısı ise 7,03 log kob/g olarak bulunmuştur.

Araştırmada dondurma miksllerinde bulunan *B. bifidum* sayıları, Hekmat and McMahon (1992), Christiansen *et al.*(1996) ve Hagen and Narvhus (1999) tarafından bildirilen sayılardan daha düşük olmuştur.

Deneme dondurmalarında belirlenen *B. bifidum* sayılarına (log kob/g) ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.23’de verilmiştir.

Çizelge 4.23. Dondurma Miksllerinde Belirlenen *B. bifidum* Sayılarına Ait Varyans Analiz Sonuçları (log kob/g) *

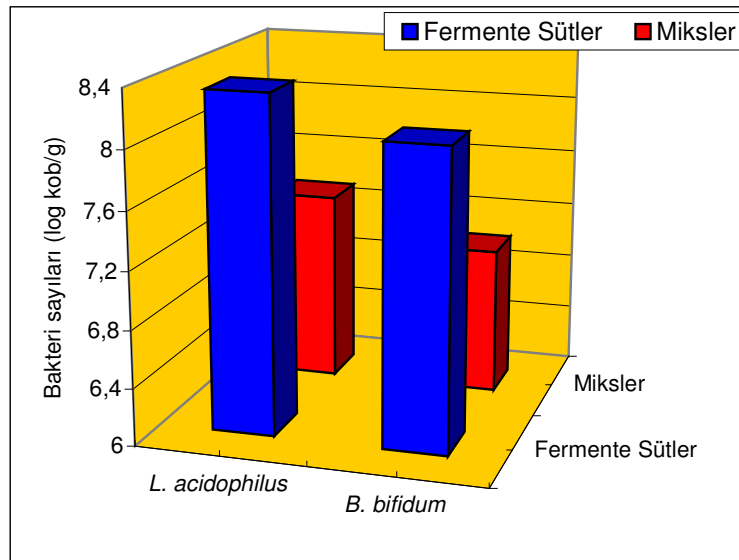
Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.164	0.164	19.660*
Krema katkısı (A)	1	0.003	0.003	0.358
Bakteri cinsi (B)	1	0.028	0.028	3.360
A x B	1	0.004	0.004	0.530
Hata	3	0.025	0.008	
Genel	7	0.224	0.032	

* $p<0,05$ seviyesinde önemli

Varyasyon tablosundan da görülebileceği gibi blokların *B. bifidum* sayısı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Bu durum, daha önce belirtildiği gibi dondurma mikslarına ilave edilen fermente sütlerdeki *B. bifidum* sayısının her denemede sabit tutulamamasından kaynaklanmaktadır.

Anavaryasyon kaynaklarından krema katkısının ve bakteri cinsinin, deneme miksların *B. bifidum* sayısı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuş ve incelenmemiştir (Çizelge 4.23).

Depolama süresince fermente süt ve mikslardaki *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısının değişimi Şekil 4.1’de verilmiştir. Şekilden izlenebileceği gibi dondurma mikslarındaki *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısı fermente sütlerle göre yaklaşık 1 log birim azalmıştır. *L. acidophilus* sayısındaki azalma *B. bifidum* sayısına göre daha az olmuştur. Bu durumun *B. bifidum*’un oksijene karşı daha fazla hassas olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü dondurma miksları, fermente sütlerin miks içerisinde homojen olarak dağılması için elektrikli mikser ile iyice karıştırılmıştır. Bu sırada *B. bifidum*’un hava oksijeniyle teması, canlı *B. bifidum* sayısının azalmasına neden olmuş olabilir.



Şekil 4.1. Fermente Süt ve Deneme Mikslardaki *L. acidophilus* ve *B. bifidum* Sayıları

4.5.3. Koliform grubu bakteri sayısı

Koliform grubu bakteri sayısı, süt ürünlerinde önemli bir kalite kriteridir. Koliform grubu bakterilerin dondurmada bulunması üretimde veya satışta gerekli hijyenik kurallara uyulmadığını gösterir (Toklu ve Yaygın 2000). İncelenen tüm deneme mikslerdeki koliform grubu bakteri sayısı tespit edilebilir seviyenin altında (<10 log kob/g) bulunmuştur. Bu sonuç dondurma mikslerinin mikrobiyolojik kalitesinin yüksek olduğunu göstermektedir.

4.5.4. *Enterobacteriaceae* sayısı

İncelenen tüm dondurma mikslerindeki *Enterobacteriaceae* grubu bakteri sayısı tespit edilebilir seviyenin altında (<10 log kob/g) bulunmuştur. Dondurma mikslerinin hazırlanması sırasında uygulanan ısıl işlem istenmeyen mikroorganizmaların imha olmasına yeterli olmuştur.

4.5.5. Maya- küf Sayısı

İncelenen tüm dondurma mikslerindeki maya- küf sayısı tespit edilebilir seviyenin altında (<100 log kob/g) bulunmuştur. Bu sonuç da yine dondurma mikslerinin mikrobiyolojik kalitesinin yüksek olduğunu göstermektedir.

4.5.6. *Staphylococcus aureus* sayısı

S. aureus, gıda zehirlenmesine neden olan bir bakteridir. Bu bakteri dondurmaya miksın soğutulması ve saklanması, dondurmanın yapılması ve satış sırasında bulaşmaktadır. Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliği'ne göre dondurmalarda *S. aureus* bulunmaması gerektiği bildirilmiştir (Anonim 2004). İncelenen deneme dondurma mikslerindeki *S. aureus* sayısı tespit edilebilir seviyenin altında (<100 log kob/g) bulunmuştur. Bu sonuç dondurma mikslerinin hijyenik bir şekilde üretildiğini göstermektedir.

4.5.7. *Salmonella* aranması

Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliği'ne göre 25 g/ml dondurmada *Salmonella* bulunmaması gerektiği bildirilmiştir (Anonim 2004). İncelenen tüm deneme mikslerde *Salmonella* varlığı tespit edilememiştir.

4.6. Dondurma Örneklerinde Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları

4.6.1. Kurumadde miktarı (%)

Tüm dondurma örneklerinde belirlenen kurumadde oranları Çizelge 4.24'de toplu halde verilmiştir.

Çizelge 4.24. Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin Kurumadde Miktarları (%)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> 'lu		<i>B. bifidum</i> 'lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'lu		Ortalama
	%5* krema	%10* krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	39,26	41,48	38,88	40,60	39,67	40,81	39,31	41,09	40,13
15	38,91	40,77	39,25	40,56	39,32	41,57	39,24	41,10	40,09
30	39,49	41,00	39,23	41,37	39,70	41,59	38,82	41,00	40,27
45	38,73	41,52	39,17	41,14	39,99	41,32	39,16	41,39	40,30
60	39,05	41,50	39,41	41,47	39,88	40,83	39,04	40,93	40,27
75	39,49	40,91	38,91	40,72	38,83	41,18	39,22	41,23	40,06
90	39,26	40,67	39,03	40,51	39,34	40,69	38,60	41,17	39,91
En düşük	38,73	40,67	38,88	40,51	38,83	40,69	38,60	40,93	39,73
En yüksek	39,49	41,52	39,41	41,47	39,99	41,59	39,31	41,39	40,52
Ortalama	39,17	41,12	39,12	40,91	39,53	41,14	39,05	41,13	40,15

* %5 krema: %5 krema katkılı dondurma

*%10 krema: %10 krema katkılı dondurma

Çizelgeden görülebileceği gibi, en düşük kurumadde miktarı (%38,60) muhafazanın 90. gününde %5 krema katkılı *L. acidophilus* + *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde, en yüksek kurumadde miktarı ise (%41,59) depolamanın 30. gününde %10 krema katkılı

B. bifidum içeren dondurma örneğinde bulunmuştur. İncelenen dondurma örneklerinin ortalama kurumadde miktarları %39,05 ile %41,14 arasında değişmiş, genel ortalaması ise %40,15 olmuştur (Çizelge 4.24).

Deneme dondurmalarından %5 krema içerenlerin, Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliği'ne göre yağlı dondurma (en az %36), %10 krema içerenlerin ise tam yağlı (en az %40) dondurma sınıfına girdiği bulunmuştur. Bulunan tüm kurumadde miktarları Dondurma Tebliği'ne uygun olmuştur (Anonim 2004).

Deneme dondurmaların kurumadde miktarlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.25'de görülmektedir. Çizelgeden de görülebileceği gibi, anavaryasyon kaynaklarından blokların kurumadde miktarı üzerindeki etkisi önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Denemede dondurma miksleri dikkatli bir şekilde hazırlanmasına rağmen değişik zamanlarda yapılan üretimlerde meydana gelen küçük farklılıklar istatistiki olarak önemli olabilmektedir.

Çizelge 4.25. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Kurumadde Miktarlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	1.140	1.140	5.914*
Krema katkısı (A)	1	96.364	96.364	499.673**
Bakteri cinsi (B)	3	1.569	0.523	2.711
A x B	3	0.855	0.285	1.477
Muhafaza süresi (C)	6	1.948	0.325	1.684
A x C	6	0.413	0.069	0.357
B x C	18	3.121	0.173	0.899
A x B x C	18	4.244	0.236	1.223
Hata	55	10.607	0.193	
Genel	111	120.260	1.083	

* $p<0,05$ seviyesinde, ** $p<0,01$ seviyesinde önemli

Anavaryasyon kaynaklarından krema katkısının (A), deneme dondurmaların kurumadde miktarları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.25). Eklenen krema doğal olarak kurumaddede bir artış meydana getirmiştir. Krema

katkısı değişkenine ait kurumadde miktarı ortalamaları Çizelge 4.26'da verilmiştir. Ortalama sayısı sadece iki adet olduğundan Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmamıştır.

Çizelge 4.26. Krema Katkısı Değişkenine Ait Kurumadde Miktarı Ortalamaları *

Krema katkısı	n	Kurumadde miktarı (%)
%5 krema katkılı	8	39,22 a
%10 krema katkılı	8	41,08 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,01$)

Anavaryasyon kaynaklarından bakteri cinsi ve muhafaza süresinin deneme dondurmaların kurumadde miktarları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Araştırmada bulunan kurumadde oranlarının, Christiansen *et al.* (1996), Koçan ve Koçak (2002), Özdemir vd (2002), Dağdemir vd (2004) ve Demir ve Alpkent (2004) tarafından bildirilen değerlerden yüksek, Atsan (2004) tarafından bulunan değerlerden düşük olduğu bulunmuştur.

4.6.2. Yağ miktarı (%)

Yağ oranı dondurmanın kalitesini etkileyen en önemli faktördür (Tekinşen 2000). Farklı oranda krema katılarak farklı probiyotik bakterilerle üretilen ve farklı sürelerde muhafaza edilen dondurmaların yağ oranları toplu olarak Çizelge 4.27'de verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden de anlaşılabileceği gibi, en düşük yağ miktarı (%5,8), muhafazanın 1. gününde %5 krema katkılı *L. acidophilus* + *B. bifidum* içeren örnekte, en yüksek yağ miktarı ise (%8,70), muhafazanın 15. gününde %10 krema katılı *L. acidophilus* içeren örnekte bulunmuştur. İncelenen dondurma örneklerinin yağ miktarları %5,91 ile %8,61 arasında değişmiş, genel ortalamasının ise %7,26 olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.27. Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin (%) Yağ Miktarları

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> 'lu		<i>B. bifidum</i> 'lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	5,85	8,60	5,90	8,55	6,00	8,50	5,80	8,55	7,22
15	5,85	8,50	6,00	8,70	5,95	8,55	5,90	8,65	7,26
30	5,90	8,50	5,95	8,65	6,00	8,55	5,95	8,60	7,26
45	6,00	8,55	6,00	8,60	6,05	8,55	5,95	8,60	7,29
60	5,90	8,55	5,95	8,55	6,00	8,55	5,95	8,60	7,26
75	5,85	8,55	5,95	8,55	6,00	8,55	5,85	8,65	7,24
90	6,00	8,60	5,90	8,60	5,90	8,65	6,05	8,65	7,29
En düşük	5,85	8,50	5,90	8,55	5,90	8,50	5,80	8,55	7,19
En yüksek	6,00	8,60	6,00	8,70	6,05	8,65	6,05	8,65	7,34
Ortalama	5,91	8,55	5,95	8,60	5,99	8,56	5,92	8,61	7,26

Deneme dondurmaların yağ miktarlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.28'de görülmektedir.

Çizelge 4.28. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Yağ Miktarlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.241	0.241	16.839**
Krema katkısı (A)	1	195.043	195.043	13603.58**
Bakteri cinsi (B)	3	0.039	0.013	0.913
A x B	3	0.053	0.018	1.237
Muhafaza süresi (C)	6	0.062	0.010	0.722
A x C	6	0.032	0.005	0.369
B x C	18	0.101	0.006	0.390
A x B x C	18	0.087	0.005	0.336
Hata	55	0.789	0.014	
Genel	111	196.447	1.770	

** p<0,01 seviyesinde önemli

Çizelgeden de görülebileceği gibi krema katkısının (A), deneme dondurmaların yağ oranları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli (p<0,01) bulunmuştur (Çizelge 4.28).

Bu sonuç beklenen bir durumdur. İlave edilen krema miktarı arttıkça dondurmaların yağ oranı artmaktadır. Krema katkısı değişkenine ait ortalamalar Çizelge 4.29’da verilmiştir.

Çizelge 4.29. Krema Katkısı Değişkenine Ait Yağ Miktarı Ortalamaları *

Krema katkısı	n	Yağ oranları (%)
%5 krema katkılı	8	5,94 a
%10 krema katkılı	8	8,58 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

Bulunan sonuçlardan; %5 krema içeren deneme dondurmaların Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliği’ne göre yarım yağlı dondurma (en az %3), %10 krema içerenlerin ise yağlı (en az %8) dondurma sınıfına girdiği anlaşılmaktadır (Anonim 2004).

Anavaryasyon kaynaklarından blokların, yağ oranları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli (p<0,01) bulunmuştur (Çizelge 4.28). Bu durum kurumadde miktarında tartışıldığı gibi dondurma mikslerinin hazırlanması ve üretimin değişik aşamalarındaki uygulamaların tekrerrürler arasında bazı farklılıklar göstermesinden kaynaklanmaktadır.

Araştırmada bulunan yağ oranları, Koçan ve Koçak (2002), Dağdemir vd (2004) ve Demir ve Alpkent (2004) tarafından bulunan değerlerden yüksek, Christiansen *et al.* (1996), Bolliger *et al.* (2000) ve Atsan (2004) tarafından bildirilen değerlerden daha düşük bulunmuştur.

Deneme dondurmaların yağ miktarı üzerine, bakteri cinsi, muhafaza süresi ve interaksiyonların etkisi istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (p<0,05) (Çizelge 4.28).

4.6.3. Protein miktarı (%)

Probiyotik bakterilerle üretilen ve farklı sürelerde muhafaza edilen deneme dondurmaların protein miktarları Çizelge 4.30’da verilmiştir. Çizelgeden de görülebileceği gibi en düşük protein miktarı (%5,41) %10 krema katkılı *L. acidophilus*

içeren dondurma örneğinde muhafazanın 60. gününde, en yüksek protein miktarı ise (%5,63) muhafazanın 15. gününde %5 krema katkılı kontrol örneğinde bulunmuştur. İncelenen dondurma örneklerinin protein miktarları %5,47 ile %5,56 arasında değişmiş, ortalama protein miktarı ise %5,53 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.30. Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin Protein Miktarları (%)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> 'lu		<i>B. bifidum</i> 'lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	5,60	5,50	5,58	5,52	5,53	5,47	5,51	5,48	5,52
15	5,63	5,51	5,59	5,50	5,54	5,44	5,57	5,55	5,54
30	5,57	5,55	5,57	5,48	5,56	5,45	5,56	5,54	5,53
45	5,44	5,49	5,54	5,51	5,63	5,52	5,61	5,53	5,53
60	5,54	5,56	5,54	5,41	5,54	5,45	5,54	5,51	5,51
75	5,56	5,46	5,57	5,41	5,54	5,47	5,55	5,49	5,51
90	5,59	5,50	5,49	5,52	5,60	5,50	5,55	5,51	5,53
En düşük	5,44	5,46	5,49	5,41	5,53	5,44	5,51	5,48	5,47
En yüksek	5,63	5,56	5,59	5,52	5,63	5,52	5,61	5,55	5,58
Ortalama	5,56	5,51	5,55	5,48	5,56	5,47	5,55	5,52	5,53

İncelenen dondurmalarda belirlenen protein miktarlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.31’de verilmiştir.

Çizelge 4.31. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Protein Miktarlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.231	0.231	68.570**
Krema katkısı (A)	1	0.110	0.110	32.681**
Bakteri cinsi (B)	3	0.010	0.003	1.030
A x B	3	0.012	0.004	1.233
Muhafaza süresi (C)	6	0.016	0.003	0.798
A x C	6	0.009	0.002	0.459
B x C	18	0.077	0.004	1.270
A x B x C	18	0.047	0.003	0.771
Hata	55	0.186	0.003	
Genel	111	0.699	0.006	

** p<0,01 seviyesinde önemli

Çizelgeden görülebileceği gibi, anavaryasyon kaynaklarından krema katkısının protein miktarları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli bulunurken ($p<0,01$), bakteri cinsi ve muhafaza süresinin etkisinin istatistiki olarak önemli olmadığı ($p<0,05$) belirlenmiştir (Çizelge 4.31). Deneme dondurma çeşitlerinin protein miktarlarına ait ortalamalar Çizelge 4.32’de verilmiştir.

Çizelge 4.32. Krema Katkısı Değişkenine Ait Protein Miktarı Ortalamaları *

Krema katkısı	n	Protein miktarı (%)
%5 krema katkılı	8	5,56 a
%10 krema katkılı	8	5,49 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

Krema oranının artırılması protein miktarında hafif azalmaya sebep olmuştur (Çizelge 4.32). Bu azalma, kremanın protein miktarının çok düşük olmasından ve nispi olarak yağ oranının yükselmesinden kaynaklanmış olabilir.

Araştırmada bulunan protein oranlarının, Bolliger *et al.* (2000), Demir ve AlpKent (2004) tarafından dondurmalarda tespit edilen değerlerden yüksek, Atsan (2004) tarafından bildirilen değerlerden daha düşük olduğu bulunmuştur.

4.6.4. % Asitlik Değeri

Deneme dondurma örneklerinin titrasyon asitlikleri % laktik asit cinsinden hesaplanmış ve Çizelge 4.33’de verilmiştir. Çizelgeden görülebileceği gibi, deneme dondurma örneklerinin asitlik değerleri %0,33 ile %0,54 arasında değişmiştir. İncelenen dondurmaların ortalama asitlik değeri %0,44 olarak bulunmuştur. En düşük asitlik %5 krema katkılı kontrol grubu dondurmada, muhafazanın 1. ve 15. günlerinde saptanmıştır. En yüksek asitlik değeri ise %10 krema katkılı *L. acidophilus* içeren dondurmada muhafazanın 90. gününde belirlenmiştir.

Çizelge 4.33. Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin % Asitlik Değerleri

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> 'lu		<i>B. bifidum</i> 'lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	0,33	0,35	0,53	0,55	0,38	0,39	0,46	0,47	0,43
15	0,33	0,34	0,53	0,53	0,38	0,39	0,47	0,47	0,43
30	0,33	0,35	0,53	0,55	0,38	0,39	0,47	0,49	0,43
45	0,33	0,34	0,54	0,54	0,39	0,40	0,47	0,49	0,43
60	0,34	0,34	0,55	0,54	0,39	0,41	0,48	0,49	0,44
75	0,34	0,34	0,55	0,55	0,39	0,41	0,47	0,49	0,44
90	0,34	0,34	0,55	0,56	0,41	0,40	0,48	0,49	0,44
En düşük	0,33	0,34	0,53	0,53	0,38	0,39	0,46	0,47	0,43
En yüksek	0,34	0,35	0,55	0,56	0,41	0,41	0,48	0,49	0,45
Ortalama	0,33	0,34	0,54	0,54	0,39	0,40	0,47	0,48	0,44

İncelenen deneme dondurmalarının asitlik değerlerine uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.34'de verilmiştir. Çizelgeden görülebileceği gibi farklı oranlarda krema katkısı ve muhafaza süresinin dondurmalarının asitlik değeri üzerindeki etkisi önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.34. Deneme Dondurmalarında Belirlenen % Asitlik Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.011	0.011	13.205**
Krema katkısı (A)	1	0.002	0.002	2.514
Bakteri cinsi (B)	3	0.680	0.227	277.044**
A x B	3	0.000	0.000	0.073
Muhafaza süresi (C)	6	0.004	0.001	0.762
A x C	6	0.001	0.000	0.136
B x C	18	0.001	0.000	0.053
A x B x C	18	0.001	0.000	0.078
Hata	55	0.045	0.001	
Genel	111	0.744	0.007	

** $p<0,01$ seviyesinde önemli

Deneme dondurmaların asitlik değeri üzerine bakteri cinsinin etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuş ve uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.35'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.35. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait % Asitlik Değerleri Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Bakteri cinsi	n	Asitlik değeri (%)
Kontrol	8	0,34 a
<i>L. acidophilus</i>	8	0,54 d
<i>B. bifidum</i>	8	0,39 b
<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	8	0,48 c

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

Çizelgeden görülebileceği gibi en düşük asitlik değeri kontrol grubu dondurmada bulunmuş, bunu *B. bifidum* içeren dondurmalar takip etmiştir. Bu iki tip dondurmanın asitlik değerleri arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli çıkmıştır (Çizelge 4.35). *B. bifidum*'un heterofermantatif bir bakteri olması ve pH 5'in altında gelişmemesinden dolayı asitlikte fazla bir artış meydana gelmemiştir. Probiyotik bakteri içeren dondurmaların asitlik değerleri, kontrol grubu dondurmaların asitlik değerinden istatistiki olarak farklı bulunmuştur. *L. acidophilus* içeren dondurmaların asitlik değeri ise diğer tüm dondurmaların asitlik değerlerinden yüksek bulunmuştur. Bu sonuç *L. acidophilus*'un *B. bifidum*'a göre daha fazla asit oluşturduğunu ve aside karşı daha dayanıklı olduğunu göstermektedir. *L. acidophilus* homofermantatif karakterde olup laktozun tamamına yakınına laktik aside dönüştürebilmektedir. Sadece *L. acidophilus* içeren dondurmayı *L. acidophilus* + *B. bifidum* içeren dondurmalar takip etmiştir. Bu iki dondurmanın asitlik değerleri arasında çok az fark olmasına rağmen bu farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Muhafaza süresince dondurma örneklerinin asitlik değerleri genel olarak bir artış göstermesine rağmen, bu artış istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.34). Dondurma örnekleri $-18\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 90 gün boyunca depolanmıştır. Bu muhafaza sıcaklığında mikroorganizmalar canlı kalmalarına rağmen dormant halde bulunduklarından, asitliği önemli seviyede yükseltecek imkan bulamamışlardır.

Araştırmada bulunan ortalama asitlik değerlerinin Güven ve Karaca (2002) ile Atsan (2004) tarafından bulunan değerlerden düşük, Alamprese *et al.* (2002), Koçan ve Koçak (2002), Güven vd (2003) tarafından bulunan değerlerden yüksek olduğu saptanmıştır.

4.6.5. pH Değeri

Farklı oranda krema katılarak, farklı probiyotik bakterilerle üretilen ve değişik sürelerde muhafaza edilen dondurmaların pH değerleri Çizelge 4.36’da verilmiştir. İncelenen dondurmalarda en yüksek pH değeri (6,36) depolamanın 75. gününde %5 krema katkılı kontrol örneğinde, en düşük pH değeri ise (5,72) muhafazanın 90. gününde %10 krema katkılı *L. acidophilus* içeren örnekte saptanmıştır. İncelenen dondurma örneklerinin pH değerleri ortalamaları 5,73 ile 6,34 arasında değişmiş, genel ortalamanın ise 6,04 olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.36. Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin pH Değerleri

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> ’lu		<i>B. bifidum</i> ’lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> ’lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	6,35	6,34	5,79	5,74	6,27	6,23	5,85	5,85	6,05
15	6,35	6,35	5,78	5,74	6,27	6,22	5,85	5,83	6,05
30	6,33	6,34	5,79	5,74	6,25	6,22	5,83	5,84	6,04
45	6,34	6,33	5,78	5,74	6,27	6,23	5,83	5,84	6,04
60	6,35	6,34	5,79	5,73	6,27	6,21	5,83	5,83	6,04
75	6,36	6,33	5,78	5,73	6,26	6,21	5,84	5,83	6,04
90	6,34	6,33	5,77	5,72	6,26	6,21	5,83	5,83	6,03
En düşük	6,33	6,33	5,77	5,72	6,25	6,21	5,83	5,83	6,03
En yüksek	6,36	6,35	5,79	5,74	6,27	6,23	5,85	5,85	6,05
Ortalama	6,34	6,34	5,78	5,73	6,26	6,22	5,84	5,83	6,04

Deneme dondurmaların pH değerlerine uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.37’de görülmektedir.

Çizelge 4.37. Deneme Dondurmalarında Belirlenen pH değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.201	0.201	11.760**
Krema katkısı (A)	1	0.019	0.019	1.085
Bakteri cinsi (B)	3	7.048	2.349	137.73**
A x B	3	0.012	0.004	0.230
Muhafaza süresi (C)	6	0.003	0.000	0.027
A x C	6	0.001	0.000	0.011
B x C	18	0.002	0.000	0.005
A x B x C	18	0.001	0.000	0.005
Hata	55	0.938	0.017	
Genel	111	8.224	0.074	

** p<0,01 seviyesinde önemli

Çizelgeden görülebileceği gibi deneme dondurmaların pH değerleri üzerine krema katkısı ve muhafaza süresinin etkisi istatistiki olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunurken, bakteri cinsinin etkisi önemli ($p<0,01$) bulunmuş (Çizelge 4.37), yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.38’de verilmiştir.

Çizelge 4.38. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait pH Değeri Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Bakteri cinsi	n	pH değeri
Kontrol	8	6.339 a
<i>L. acidophilus</i>	8	5.756 c
<i>B. bifidum</i>	8	6,238 b
<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	8	5,834 c

*Farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

Tekli *B. bifidum* içeren dondurmaların pH değerleri kontrol grubuna yakın olmasına rağmen, aradaki farklılık istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. *L. acidophilus* ise dondurmaların pH’sını önemli düzeyde düşürmüştür. Tekli *L. acidophilus* içeren dondurmaların pH değeri, *L. acidophilus* + *B. bifidum* karışımı içeren dondurmaların pH değerinden daha düşük olmasına rağmen değerler arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.38).

Muhafaza süresince dondurmaların pH değerlerinde bir miktar azalma olmasına karşın, bu azalma istatistiki olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.37). Depolama süresince dondurmaların asitlik değerlerinde meydana gelen değişimin istatistiki olarak önemsiz olması da (Çizelge 4.34) bu bulguyu doğrulamaktadır. Dondurmalar -18 ± 2 °C’de muhafaza edilmişlerdir. Bu depolama sıcaklığında mikroorganizmalar gelişip, dondurmaların pH’sını önemli seviyede düşürecek imkan bulamamışlardır.

Araştırmada bulunan pH değerlerinin, Christiansen *et al.* (1996), Koçan ve Koçak (2002) ve Özdemir vd (2002) tarafından bulunan değerlerden düşük, Demir ve AlpKent (2004) tarafından bulunan değerlerden yüksek, Güven vd (2003), Dağdemir vd (2004) ve Şimşek vd (2006) tarafından bildirilen değerlerle benzer olduğu saptanmıştır.

4.6.6. Hacim artışı (overrun) (%)

Miksin dondurulması sırasında dondurma içerisine bir miktar hava verildiğinden dondurmanın hacminde artış meydana gelmektedir. Esas olarak havadan ibaret olan bu artış “hacim artışı (overrun)” olarak ifade edilmekte ve yüzde ile gösterilmektedir. Hacim artışı asıl verim üzerine etkili olduğu gibi dondurmanın yapı, tekstür ve lezzeti üzerine de etkili olmaktadır (Gürsel ve Karacabey 1998).

Değişik oranda krema katılarak, farklı probiyotik bakterilerle üretilen deneme dondurmalarında belirlenen % hacim artışları Çizelge 4.39’da verilmiştir. En yüksek hacim artışı (44,55) %5 krema katkılı *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde, en düşük hacim artışı (30,38) ise %10 krema katkılı *L. acidophilus* içeren dondurma örneğinde bulunmuştur. Dondurma örneklerindeki hacim artışı genel ortalaması ise 37,49 olmuştur.

Çizelge 4.39. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Hacim Artışı Oranları (%)

Kontrol		<i>L. acidophilus</i> ’lu		<i>B. bifidum</i> ’lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> ’lu		Ortalama
%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
41,35	33,2	39,96	30,38	44,55	37,06	38,48	34,96	37,49

Çizelgeden de görülebileceği (Çizelge 4.39) gibi deneme dondurmalarında en düşük hacim artışı *L. acidophilus* içeren dondurmalarında bulunmuştur. Bu bulgu yüksek asitliğin hacim artışı üzerine olumsuz etki yaptığını göstermektedir

Deneme dondurmaların hacim artışı değerlerine uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.40'da gösterilmiştir. Hacim artışı değerleri üzerine bakteri cinsinin etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunurken ($p>0,05$), krema katkısının etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur.

Çizelge 4.40. Deneme Dondurmalarında Belirlenen % Hacim Artışlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	114.544	114.544	7.659*
Krema katkısı (A)	1	206.425	206.425	13.802**
Bakteri cinsi (B)	3	68.109	22.703	1.518
A x B	3	20.122	6.707	0.448
Hata	7	104.690	14.956	
Genel	15	513.890	34.259	

* $p<0,05$ seviyesinde, ** $p<0,01$ seviyesinde önemli

Deneme dondurmalarında, krema katkısı değişkenine ait hacim artışı değeri ortalamaları Çizelge 4.41'de gösterilmiştir. Çizelgeden de görüleceği gibi krema oranındaki artma hacim artışının azalmasına neden olmuştur. Gürsel ve Karacabey (1998), dondurmada hacim artışı üzerine olumsuz etki yapan faktörlerden bir tanesinin fazla yağ içeriği olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmada bulunan sonuç da bu bilgi ile paralellik göstermiştir.

Çizelge 4.41. Krema Katkısı Değişkenine Ait Hacim Artışı (%) Ortalamaları *

Krema katkısı	n	Hacim artışı (%)
%5 krema katkılı	8	41,08 a
%10 krema katkılı	8	33,89 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

Deneme dondurmalarında bulunan hacim artışı değerlerinin, Özdemir vd (2002) ve Güven vd (2003) tarafından bulunan değerlere benzer, Güven ve Karaca (2002), Dağdemir vd (2004), Atsan (2004) tarafından bulunan değerlerden yüksek, Christiansen *et al.* (1996), Koçan ve Koçak (2002), tarafından bulunan değerlerden düşük olduğu tespit edilmiştir.

4.7. Dondurma Örneklerinde Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

4.7.1. Mikroorganizmaların tanımlanması

4.7.1.a. *L. acidophilus*'un tanısı

Üretilen probiyotik dondurmaların mikrobiyolojik analizleri sırasında petrilere gelişen *L. acidophilus* kolonilerinin kesin olarak tanımlanması için mikroskopik muayene ve katalaz testine ilave olarak API 50 CH (ref: 50300) sistem (Bio-merieux, Marcy l'Etoile, France) tanımlama testi kullanılmıştır. API 50 CH sisteminde 50 adet mikro tüp ve bu tüplerin içerisinde dehidre edilmiş substratlar bulunmaktadır. Özel besiyeri içerisinde (API 50 CHL, ref. 50410) ve belli konsantrasyonda (2McF) hazırlanan bakteri süspansiyonu bu mikro tüplere dağıtılmakta ve bakteri bu substratları kullanarak renk değişimleri oluşturmaktadır.

API striplerinin reaksiyon sonrası sonuçların değerlendirilmesi APILAB Plus V.5.0 tarafından otomatik olarak yapılmıştır. Değerlendirme sonucunda % ID değerinin 87,0 ve T değerinin ise 0,86 olduğu saptanmıştır. API sistemi ile yapılan identifikasyonda % ID değeri dikkate alınmakta, T değeri ise bakterinin tipiklik ve atipiklik seviyesini göstermektedir. API CH 50 stripinin 24 saatlik inkübasyon sonrası renk değişimi Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. API CH 50 Stripinin 24 Saatlik İnkübasyon Sonrası Görünümü

4.7.1.b. *B. bifidum*'un tanısı

Probiyotik dondurmaların mikrobiyolojik analizleri sırasında petrilerde gelişen *B. bifidum* kolonilerinin kesin olarak tanımlanması için mikroskopik muayene ve katalaz testine ilave olarak API 20 A (ref: 20300) sistem (Bio-merieux, Marcy l'Etoile, France) tanımlama testi kullanılmıştır. API 20 A sisteminde 20 adet mikro tüp ve bu tüplerin içerisinde dehidre edilmiş substratlar bulunmaktadır. Özel besiyeri içerisinde (API 20 A medyum) ve belli konsantrasyonda hazırlanan bakteri süspansiyonu bu mikro tüplere dağıtılmakta ve bakteri bu substratları kullanarak renk değişimleri oluşturmaktadır.

API 20A striplerinin reaksiyon sonrası sonuçların değerlendirilmesi APILAB Plus V.3.3 tarafından otomatik olarak yapılmıştır. Değerlendirme sonucunda % ID değerinin 97,2 ve T değerinin ise 0,81 olduğu ve iyi bir identifikasyon olduğu belirlenmiştir. API 20 A stripinin sırasıyla 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonrası renk değişimleri Şekil 4.3'de gösterilmiştir.

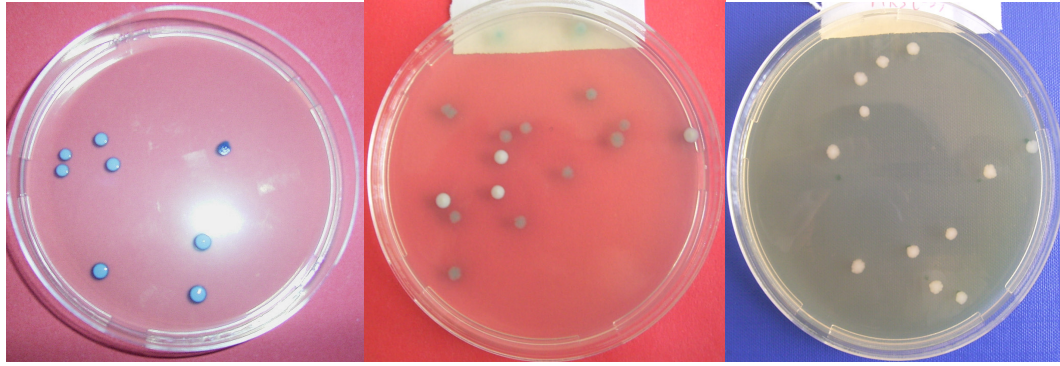


Şekil 4.3. API 20 A Stripinin Sırasıyla 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Sonrası Görünümü

4.7.2. *L. acidophilus* sayısı

Araştırmada 2 farklı krema katkısıyla (%5 ve 10) hazırlanan dondurma miksleri 4'er eşit kısma ayrılıp bir tanesi kontrol grubu olarak ayrılmış ve herhangi bir probiyotik bakteri katkısı yapılmamıştır. İkinci kısım mikslere sadece *B. bifidum* içeren fermente süt katılmış, beklenen şekilde bu dondurmada *L. acidophilus* gelişmesi görülmemiştir (<100 kob/g). Üçüncü kısım mikslere *L. acidophilus*, dördüncü kısım mikslere de her iki bakteriyi içeren fermente sütler katılmıştır. Bu şekilde üretilen dondurmaların depolama süresi boyunca belirtilen günlerinde alınan örneklerinden ¼' lük ringer çözeltilisiyle uygun dilüsyonları hazırlanıp yayma metodu ile ekimleri yapılmıştır. Tekli kültürle üretilen dondurmalarda *L. acidophilus* sayısının belirlenmesi amacıyla MRS agar kullanılmıştır. Anaerobik ortamda 37°C'de 72 saat inkübasyondan sonra MRS agar üzerinde *L. acidophilus*'un küçük, kirli sarı ve mukozumsu koloniler oluşturduğu tarafımızdan saptanmış ve bu koloniler sayılmıştır. Karışık kültürle üretilen dondurmalarda *L. acidophilus* sayısının belirlenmesinde X-Glu Agar kullanılmıştır. Anaerobik ortamda X-Glu agarda 37°C'de 72 saat inkübasyondan sonra *L. acidophilus* kolonileri mavi renk oluşturarak geliştiği, *B. bifidum*'un ise renk değişikliği oluşturamadığı bulunmuştur. Karışık kültürle üretilen dondurmalarda *L. acidophilus* sayısının belirlenmesinde yine aynı dilüsyonlardan eş zamanlı olarak selektif Bile-MRS

ve salisin- MRS agar üzerine de aynı şartlarda ekim yapılmış ancak bu besiyerlerinde *L. acidophilus* kolonilerinin baskılandığı veya *B. bifidum*'un da geliştiği saptandığından bu ortamlarda sayılan koloniler başka bir çalışmada kullanılmak üzere ayrılmış, bu araştırmada kullanılmamıştır. İnceleme sonucunda araştırmanın amacına en uygun sonuçların *L. acidophilus* için MRS ve X-Glu agarda elde edildiği anlaşılmıştır. X-Glu ve MRS agarda gelişen *L. acidophilus* kolonilerinin fotoğrafları Şekil 4.4'de, yapılan sayımlar ise Çizelge 4.42'de görülmektedir.



Şekil 4.4. X-Glu (ilk iki petri) ve MRS Agarda Gelişen *L. acidophilus* Kolonileri

Çizelge 4.42. Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurmalarında Belirlenen *L. acidophilus* sayıları (log kob/g)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> 'lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	<100	<100	7,239	7,202	7,062	7,033	7,134
15	<100	<100	7,105	7,152	6,927	6,867	7,013
30	<100	<100	7,040	7,087	6,946	6,895	6,992
45	<100	<100	7,017	7,015	6,827	6,801	6,915
60	<100	<100	6,841	6,942	6,602	6,741	6,782
75	<100	<100	6,860	6,903	6,577	6,718	6,765
90	<100	<100	6,720	6,879	6,651	6,735	6,746
En düşük	-	-	6,720	6,879	6,577	6,718	6,724
En yüksek	-	-	7,239	7,202	7,062	7,033	7,134
Ortalama	-	-	6,975	7,026	6,799	6,827	6.907

Çizelgeden de izlenebileceği gibi, en yüksek *L. acidophilus* sayısı (7,239 log kob/g), ilk gün %5 krema katkılı tekli kültürle üretilen dondurmada, en düşük sayı ise (6,577 log kob/g), %5 krema katkılı karışık kültürle üretilen dondurmada depolamanın 75. gününde tespit edilmiştir. İncelenen dondurma örneklerinde depolama süresince ortalama *L. acidophilus* sayısı 6,799 ile 7,026 log kob/g arasında değişmiş genel ortalama ise 6,907 log kob/g olarak bulunmuştur (Çizelge 4.42).

Hagen and Narvhus (1999), *L. acidophilus* (La-5), *L. reuteri*, *B. bifidum* (BB-12) ve *L. rhamnosus* “GG” olmak üzere 4 bakteriyle ayrı ayrı fermente edilmiş sütleri kullanarak yaptıkları dondurmada, depolama süresince ortalama *L. acidophilus* sayısının 6,75 log kob/g olduğu belirtilmiştir. Yine dondurma işlemi esnasında bakteri sayısında 0,7-0,8 log birimlik azalma meydana geldiği bildirmişlerdir.

Christiansen *et al.* (1996), probiyotik dondurma üretiminde *B. bifidum* ve *L. acidophilus* ile fermente edilmiş hazır ticari sütleri kullanmışlardır. Dondurma işleminden sonra canlı bakteri sayısında 0.6-1 log’lık bir azalma meydana geldiğini, bu aşamada *L. acidophilus* sayısının 1.2×10^7 olduğunu, yine -20°C ’de 16 hafta depolama işleminden sonra bakteri sayısının 6,7–7 kob/ml seviyesinde değiştiğini bildirmişlerdir.

Hekmat and McMahon (1992), *L. acidophilus* ve *B. bifidum* bakterilerini kullanarak yaptıkları probiyotik dondurmada, -29°C ’de 17 haftalık muhafaza boyunca *L. acidophilus* sayısında 1 log veya daha az azalma olduğunu, başlangıçtaki ortalama 5×10^8 kob/ml olan *L. acidophilus* sayısının 17 hafta sonra 6,47 log kob/ml olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada bulunan *L. acidophilus* sayıları Hagen and Narvhus (1999)’un buldukları değerlere yakın, Hekmat and McMahon (1992)’un bildirdikleri değerden biraz yüksek ve Christiansen *et al.* (1996) ile Alamprese *et al.* (2002)’in değerlerinden de daha düşük olarak bulunmuştur. Yine araştırmada dondurma işleminden sonra canlı *L. acidophilus* sayısında 0.21 log’lık bir azalma meydana geldiği saptanmıştır. Bulunan bu değer ise Hekmat and McMahon (1992), Christiansen *et al.* (1996) ve Hagen and Narvhus (1999)

tarafından bildirilen değerlerden düşük, Alamprese *et al.* (2002) tarafından bildirilen değere çok yakın bulunmuştur. Bu farklılıkların kullanılan suşların, fermente süt miktarının ve dondurma yapım teknolojisinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Deneme dondurmalarında belirlenen *L. acidophilus* sayılarına (log kob/g) ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.43’de verilmiştir.

Çizelge 4.43. Deneme Dondurmalarında Belirlenen *L. acidophilus* Sayılarına (log kob/g) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	2.740	2.740	217.685**
Krema katkısı (A)	1	0.022	0.022	1.765
Bakteri cinsi (B)	1	0.490	0.490	38.947**
A x B	1	0.002	0.002	0.147
Muhafaza süresi (C)	6	1.055	0.176	13.977**
A x C	6	0.056	0.009	0.740
B x C	6	0.028	0.005	0.374
A x B x C	6	0.017	0.003	0.231
Hata	27	0.340	0.013	
Genel	55	4.751	0.086	

** p<0,01 seviyesinde önemli

Çizelgeden de görülebileceği gibi (Çizelge 4.43), krema katkısının, deneme dondurmalarındaki *L. acidophilus* sayısı üzerine etkisi istatistiki olarak önemsiz (p>0,05) bulunmuştur. Bu bulgu, %10 krema oranının *L. acidophilus*’un canlı kalması üzerine etkisinin olmadığını göstermektedir. Anavaryasyon kaynaklarından bakteri cinsinin, *L. acidophilus* sayısı üzerine etkisi ise önemli (p<0,01) bulunmuştur. Bakteri cinsi değişkenine ait *L. acidophilus* sayısı ortalamaları Çizelge 4.44’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.44. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait *L. acidophilus* Sayısı Ortalamaları (log kob/g)*

Bakteri cinsi	n	<i>L. acidophilus</i> sayısı
Tekli kültür	4	7,02 a
İkili kültür	4	6,81 b

* Farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

Çizelgeden de görülebileceği gibi tekli kültür ile üretilen deneme dondurmalarındaki canlı *L. acidophilus* sayısı, depolamanın sonunda ortalama 7,02 log kob/g bulunmuştur. *B. bifidum* ile karışık olarak üretilen dondurmalar ise bu sayı biraz düşerek 6,81 log kob/g olarak bulunmuştur. Bu iki değer birbirlerinden istatistiki olarak farklı olmasına rağmen her iki dondurma da probiyotik ürünler için gerekli olan 6 log kob/g'lık sayıyı karşılamaktadır. Çizelgeden yine, ikili kültürle üretilen dondurmalarındaki *L. acidophilus* sayısının tekli kültürle üretilen dondurmalarındaki *L. acidophilus* sayısından daha düşük olduğunu görülmektedir. 90 günlük muhafaza süresi sonunda tekli kültürle üretilen dondurmalarındaki *L. acidophilus* sayısında başlangıçtaki sayıya göre ortalama 0,42, karışık kültürle üretilen dondurmalar ise yaklaşık 0,35 log birimlik bir azalma meydana gelmiştir.

Bu bulgu, *L. acidophilus*'un gelişmesini üzerine *B. bifidum*'un olumsuz etkide bulunduğunu göstermektedir. Yapılan korelasyon testi sonunda, bakteri sayıları arasında bulunan negatif bir ilişki ($r = -0,419$) de bu sonucu doğrulamaktadır ($p < 0,01$).

Anavaryasyon kaynaklarından muhafaza süresinin, *L. acidophilus* sayısı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.43). Uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.45'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.45. Muhafaza Süresi Değişkenine Ait *L. acidophilus* sayısı (log kob/g) Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

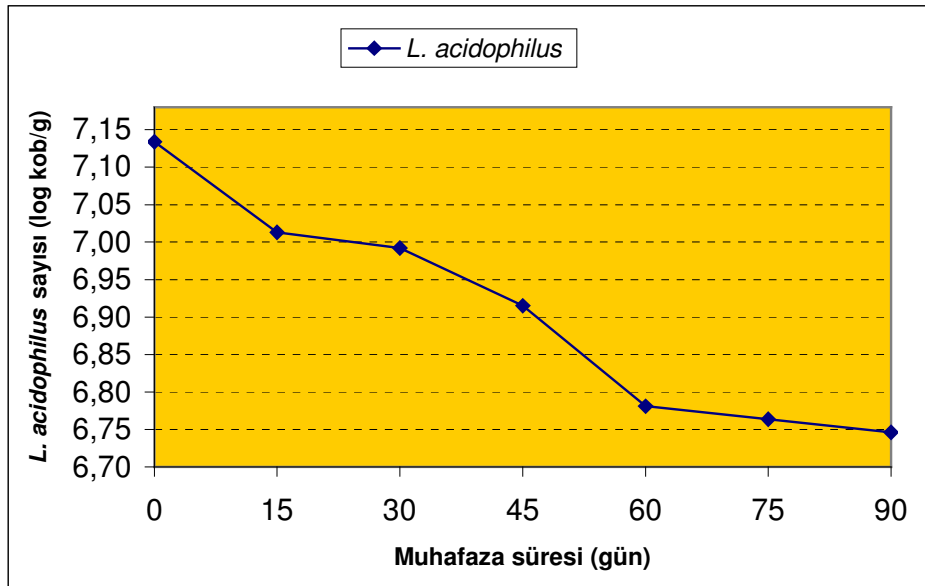
Muhafaza süresi (gün)	n	<i>L. acidophilus</i> sayısı
1	8	7,13 a
15	8	7,01 ab
30	8	6,99 ab
45	8	6,92 ab
60	8	6,78 ab
75	8	6,76 b
90	8	6,75 b

* Aynı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir ($p < 0,01$)

Çizelgeden de görülebileceği gibi, depolamanın 75. ve 90. günlerinde belirlenen sayılar ilk gün belirlenen sayıdan istatistiki olarak farklı ($p < 0,01$) bulunmuştur. Dondurma

örneklerinde belirlenen *L. acidophilus* sayıları depolama süresince genel olarak düşme eğilimi göstermiş olmasına rağmen, 15. günden sonra bulunan sayıların istatistiki olarak birbirine benzediği ($p<0,01$) anlaşılmaktadır (Çizelge 4.45). Bu sonuçlar, *L. acidophilus* ile probiyotik dondurmanın üretilebileceğini ve 90 günden daha uzun süre muhafaza edilebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, probiyotik dondurmalar ne kadar taze tüketilirse yararlılığının da daha fazla olacağı da söylenebilir.

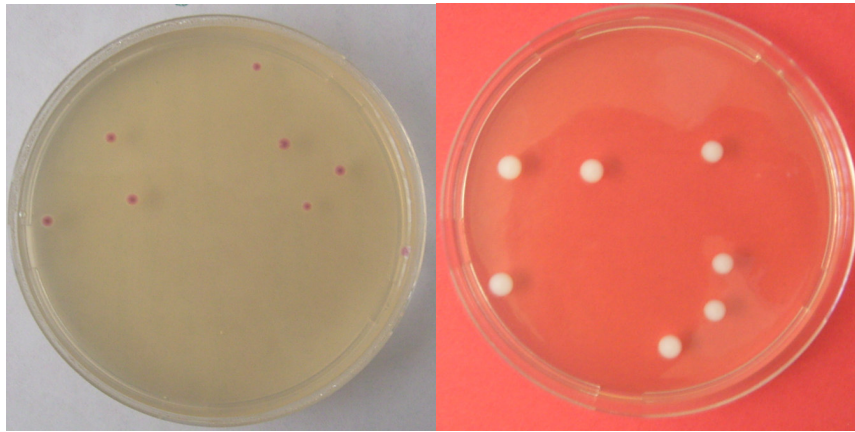
Depolama süresince *L. acidophilus* sayısının değişimi Şekil 4.5’de gösterilmiştir. Şekilden de izlenebileceği gibi, *L. acidophilus* sayısı depolamanın 0-15. ve 30-60. günleri arasında keskin şekilde düşmüş, daha sonraki günlerde ise nispeten sabit bir seyir takip etmiştir. Genel olarak muhafaza süresince *L. acidophilus* sayısı azalmıştır. Christiansen *et al.* (1996), Hagen and Narvhus (1999) ve Alamprese *et al.* (2002), depolama süresince *L. acidophilus* sayısında görülen değişimlerin önemsiz olduğu bildirmektedirler. Bu araştırmada ise muhafaza süresince *L. acidophilus* sayısının azaldığı ve bu azalmaların istatistiki bakımdan önemli ($p<0,01$) olduğu ortaya çıkmıştır.



Şekil 4.5. Deneme Dondurmalarında Muhafaza Süresince Belirlenen *L. acidophilus* Sayıları

4.7.3. *B. bifidum* sayısı

Araştırmada, üretilen dondurma miksleri 4'er eşit kısma ayrılıp bir tanesi kontrol grubu olarak ayrılmış ve probiyotik bakteri ilavesi yapılmamıştır. İkinci kısım mikslere *L. acidophilus*, üçüncü kısım mikslere *B. bifidum*, dördüncü kısım mikslere de her iki bakteriyi eşit miktarda içeren fermente sütler katılmıştır. Üretilen dondurmaların uygun dilüsyonlarından yayma metoduyla ekimler yapılmıştır. Tekli kültürle üretilen dondurmalarda *B. bifidum* sayısının belirlenmesi için MRS agar kullanılmıştır. Anaerobik ortamda 37°C'de 72 saat inkübasyondan sonra *B. bifidum*'un MRS agar üzerinde geniş ve beyazımsı koloniler oluşturduğu tarafımızdan saptanmış ve bu koloniler sayılmıştır. Karışık kültürle üretilen dondurmalarda *B. bifidum* sayısının belirlenmesinde BSM agar kullanılmıştır. Anaerobik ortamda BSM agarda 37°C'de 72 saat inkübasyondan sonra *B. bifidum* kolonilerinin morumsu kırmızı renk oluşturarak geliştiği, *L. acidophilus*'un ise gelişemediği görülmüştür. Karışık kültürle üretilen dondurmalarda *B. bifidum* sayısının belirlenmesinde aynı dilüsyonlardan NLLP-MRS agar üzerine de ekim yapılmış ancak sayılarının baskılandığı bulunduğundan bu agarlar üzerinde bulunan sayılar araştırmada kullanılmamıştır. İnceleme sonunda araştırmanın amacına en uygun sonuçların *B. bifidum* için MRS ve BSM agarda elde edildiği anlaşılmıştır. Deneme dondurmalarında gelişen *B. bifidum* kolonilerinin fotoğrafları Şekil 4.6'da, yapılan sayımlar ise Çizelge 4.46'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Sırasıyla BSM ve MRS Agarda gelişen *B. bifidum* Kolonilerinin Görünümü

Çizelge 4.46. Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurmalarında Belirlenen *B. bifidum* Sayıları (log kob/g)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>B. bifidum</i> 'lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	<100	<100	6,901	6,970	6,919	6,897	6,922
15	<100	<100	6,724	6,869	6,749	6,843	6,796
30	<100	<100	6,703	6,818	6,695	6,769	6,746
45	<100	<100	6,724	6,861	6,635	6,718	6,735
60	<100	<100	6,615	6,730	6,623	6,649	6,654
75	<100	<100	6,622	6,743	6,628	6,631	6,656
90	<100	<100	6,664	6,727	6,569	6,662	6,656
En düşük	-	-	6,615	6,727	6,569	6,631	6,636
En yüksek	-	-	6,901	6,970	6,919	6,897	6,922
Ortalama	-	-	6,708	6,82	6,69	6,738	6,74

Çizelgeden de izlenebileceği gibi muhafaza süresince deneme dondurmalarında en yüksek *B. bifidum* sayısı (6,97 log kob/g), %10 krema katkılı ve tekli *B. bifidum* ile üretilen dondurmada 1. gün yapılan sayımda, en düşük sayı ise (6,569 kob/g) ise *B. bifidum*+ *L. acidophilus* karışımı ile üretilen %5 krema katkılı dondurma örneğinde, muhafazanın 90. gününde belirlenmiştir. İncelenen dondurma örneklerindeki *B. bifidum* sayısı 6,82-6,69 log kob/g arasında değişmiş ve genel ortalama 6,74 log kob/g olarak bulunmuştur (Çizelge 4.46).

Hagen and Narvhus (1999), *B. bifidum* (BB-12) ile fermente edilmiş sütü kullanarak yaptıkları dondurmada 52 haftalık depolama süresince *B. bifidum* sayısının ortalama 7,0 log kob/g olduğunu, dondurma işlemi esnasında *B. bifidum* sayısında 0,7-0,8 log birimlik azalma oluştuğunu bildirmişlerdir.

Christiansen *et al.* (1996), probiyotik dondurma üretiminde *B. bifidum* ile fermente edilmiş hazır ticari sütleri %25-50 oranında kullanmışlardır. Dondurma işleminden sonra canlı bakteri sayısında 0,6-1 log'lık bir azalma meydana geldiğini, *B. bifidum* sayısının 6×10^7 kob/ml olduğunu ve -20°C 'de 16 haftalık depolama işleminden sonra *B. bifidum* sayısının 6,7-7 log kob/ml seviyesinde değiştiğini bildirmişlerdir.

Hekmat and McMahon (1992), *L. acidophilus* ve *B. bifidum* bakterilerini kullanarak yaptıkları probiyotik dondurmada, -29°C’de 17 haftalık muhafaza boyunca *B. bifidum* sayısında 1 log veya daha az azalma olduğu, başlangıçtaki ortalama 5×10^8 kob/ml olan *B. bifidum* sayısının 1 haftalık muhafaza sonrası 2.5×10^8 log kob/ml’e düştüğünü ve 17 hafta sonra sayının 7,0 log kob/ml olduğunu bildirmişlerdir.

Araştırmada bulunan *B. bifidum* sayılarının Hagen and Narvhus (1999) ve Hekmat and McMahon (1992)’un buldukları değerlerden düşük, Christiansen *et al.* (1996)’ın bulunduğu değerlere benzer olduğu saptanmıştır. Denemede, dondurma işlemi sırasında *B. bifidum* sayısında görülen yaklaşık 0,3 log birimlik azalmanın Christiansen *et al.* (1996) ve Hagen and Narvhus (1999) tarafından saptanan değerlerden daha düşük oranda gerçekleştiği bulunmuştur. Bu farklılığın daha öncede belirtildiği gibi farklı bakteri suşlarından, dondurma üretim teknolojisindeki bazı farklılıklardan veya sayım için kullanılan ortamların farkından ileri gelmiş olabileceği söylenebilir.

Deneme dondurmalarında belirlenen *B. bifidum* sayılarına (log kob/g) ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.47’de görülmektedir.

Çizelge 4.47. Deneme Dondurmalarında Belirlenen *B. bifidum* Sayısı (log kob/g) Ortalamalarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	1.810	1.810	392.067**
Krema katkısı (A)	1	0.089	0.089	19.302**
Bakteri cinsi (B)	1	0.033	0.033	7.237*
A x B	1	0.012	0.012	2.679
Muhafaza süresi (C)	6	0.462	0.077	16.665**
A x C	6	0.013	0.002	0.454
B x C	6	0.018	0.003	0.638
A x B x C	6	0.007	0.001	0.247
Hata	27	0.125	0.005	
Genel	55	2.568	0.047	

* p<0,05 seviyesinde, ** p<0,01 seviyesinde önemli

Krema katkısının dondurmalarındaki *B. bifidum* sayısı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Bu bulgu artan krema oranının *B. bifidum*'un canlı kalması üzerine olumlu etkide bulunduğunu göstermektedir. Krema oranının *L. acidophilus*'un canlı kalması üzerine etkisi ise istatistiki olarak önemli ($p>0,05$) bulunmamıştır (Çizelge 4.47).

Krema katkısı değişkenine ait *B. bifidum* sayısı ortalamaları Çizelge 4.48'de verilmiştir. Ortalama sayısı sadece iki adet olduğu için çoklu karşılaştırma testi yapılmamıştır.

Çizelge 4.48. Krema Katkısı Değişkenine Ait *B. bifidum* Sayısı Ortalamaları (log kob/g)*

Krema katkısı	n	<i>B. bifidum</i> sayısı
%5 krema katkılı	4	6,698 a
%10 krema katkılı	4	6,778 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

Anavaryasyon kaynaklarından bakteri cinsinin, *B. bifidum* sayısı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) bulunmuştur (Çizelge. 4.47). Bakteri cinsi değişkenine ait *B. bifidum* ortalamaları Çizelge 4.49'da verilmiştir.

Çizelge 4.49. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait *B. bifidum* Sayısı Ortalamaları (logkob/g)*

Bakteri cinsi	n	<i>B. bifidum</i> sayısı
Tekli kültür	4	6,762 a
İkili kültür	4	6,713 b

* Farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

Çizelgeden de görülebileceği gibi (Çizelge 4.49), *L. acidophilus*+ *B. bifidum* karışımı ile üretilen dondurmalarındaki *B. bifidum* sayısı, tekli *B. bifidum* ile üretilen dondurmalarındaki sayıdan daha düşük bulunmuştur. *B. bifidum*'un gelişmesi *L. acidophilus* tarafından olumsuz etkilenmiştir. Bu durumun *L. acidophilus* tarafından üretilen antimikrobiyal karakterdeki bakteriyosinlerden kaynaklandığı söylenebilir.

Anavaryasyon kaynaklarından muhafaza süresinin, *B. bifidum* sayısı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.47). Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.50’de verilmiştir.

Çizelge 4.50. Muhafaza Süresi Değişkenine Ait *B. bifidum* Sayısı Ortalamalarının (log kob/g) Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Muhafaza süresi (gün)	n	<i>B. bifidum</i> sayısı
1	8	6,92 a
15	8	6,80 ab
30	8	6,75 ab
45	8	6,73 ab
60	8	6,65 b
75	8	6,66 b
90	8	6,66 b

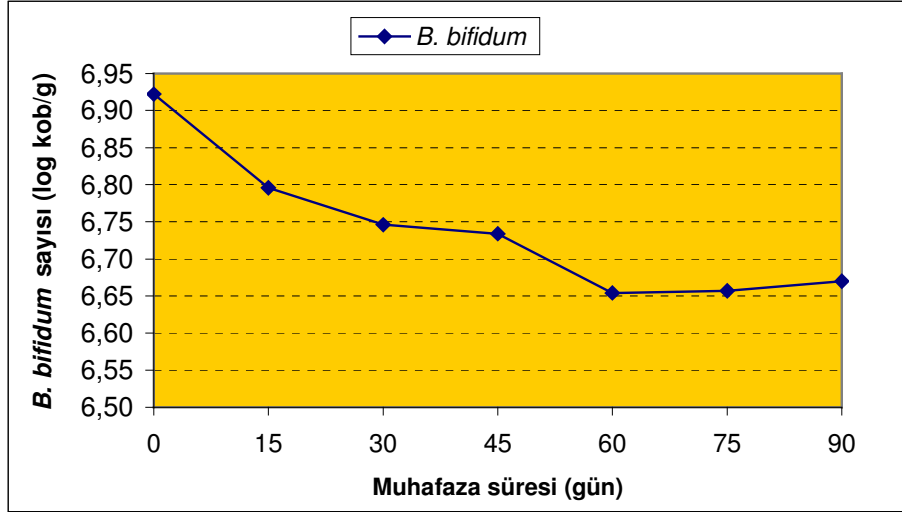
* Farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

Çizelgeden de izlenebileceği gibi *B. bifidum* sayıları muhafaza süresince azalmasına rağmen 45. güne kadar bulunan sayılar istatistiki olarak ilk gün bulunan sayıya benzemektedir. Depolamanın 60-90. günleri arasında bulunan *B. bifidum* sayılarının ilk gün belirlenen sayıdan düşük ve istatistiki olarak farklı olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.50).

Bu sonuçlar, *B. bifidum* ile üretilen probiyotik dondurmanın 90 günlük muhafaza periyodunda istenilen canlı bakteri sayısını koruduğunu göstermektedir. Christiansen *et al.* (1996) ve Hagen and Narvhus (1999) tarafından yapılan çalışmalarda, depolama süresince *B. bifidum* sayısında görülen değişimlerin istatistiki olarak önemsiz olduğu bildirilmiştir. Bu araştırmada ise muhafaza boyunca *B. bifidum* sayısında azalmaların olduğunu ve bu azalmaların istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) olduğu saptanmıştır.

Muhafaza süresince *B. bifidum* sayısının değişimi Şekil 4.7’de gösterilmiştir. *B. bifidum* sayısı muhafazanın 0-15. ve 45-60. günleri arasında hızlı şekilde düşmüş, daha sonraki günlerde ise nispeten sabit bir seyir takip etmiştir. Depolamanın 60. gününden sonra belirlenen sayılar, hemen hemen sabit kalmıştır. Bu sonuçlara göre dondurma

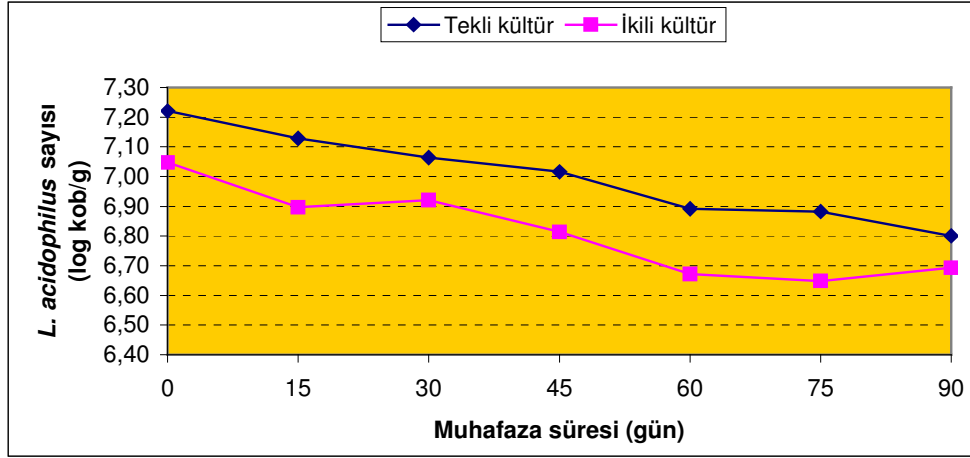
örneklerindeki *B. bifidum* sayısının 60. günden sonra belirli bir dengeye ulaştığı söylenebilir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Deneme Dondurmalarında Muhafaza Süresince Belirlenen *B. bifidum* Sayıları

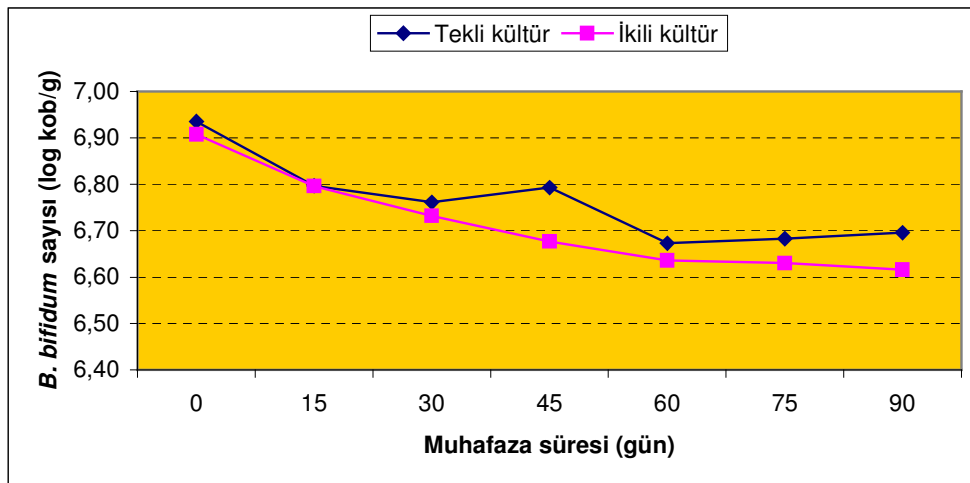
4.7.4. *L. acidophilus* ve *B. bifidum* bakterilerinin birlikte gelişme durumu

L. acidophilus'un tek başına ve *B. bifidum* ile birlikte ilavesiyle üretilen dondurmalarda, muhafaza süresince *L. acidophilus* sayılarının değişimi Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Şekilden de izlenebileceği gibi, tekli kültür ile üretilen dondurmalarda *L. acidophilus* sayısı 60. güne kadar kademeli bir düşüş göstermiş ve 90. günde sayı 6,80 log kob/g bulunmuştur. Aynı bakteri, ikili kültürle üretilen dondurmada ise 60. güne kadar dalgalı bir seyir izlemiş daha sonraki dönemlerde belirli bir dengeye ulaşmıştır. Depolama sonundaki sayısı ise 6,69 log kob/g olmuştur.



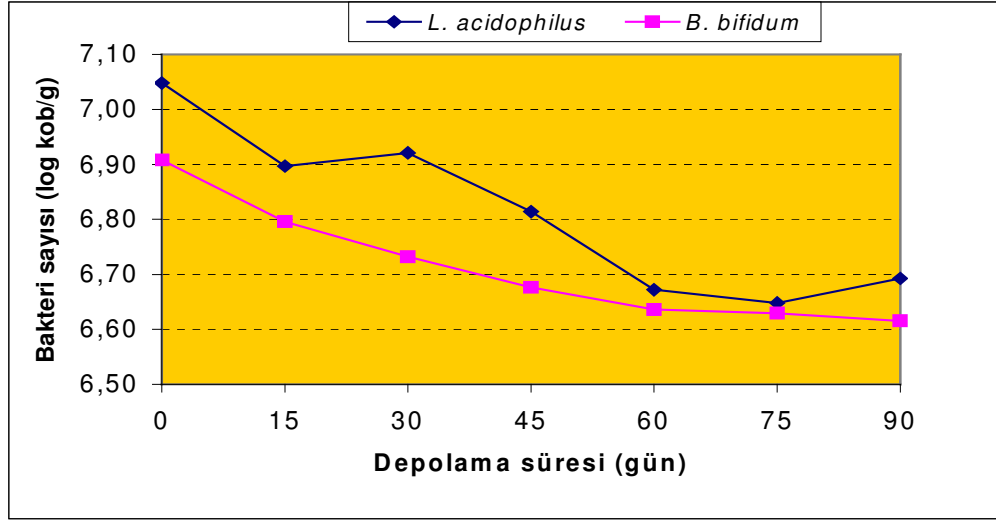
Şekil 4.8. *L. acidophilus*'un Tek ve *B. bifidum* ile Karışımı Şeklinde Üretilen Dondurmalarla Muhafaza Süresince Sayıların Değişimi

B. bifidum'un tek ve *L. acidophilus* ile birlikte kullanımı ile üretilen dondurmalarla belirlenen *B. bifidum* sayılarının seyri ise Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Şekilden izlenebileceği gibi, tekli kültürle üretilen dondurmalarla *B. bifidum* sayısı depolama süresince dalgalı bir seyir izlemiş ve 90. günde sayı 6,70 log kob/g olmuştur. İkili kültürle üretilen dondurmalarla *B. bifidum* sayısı ise 60. güne kadar kademeli olarak azalmış daha sonraki dönemlerde ise belirli bir dengeye ulaşmıştır.



Şekil 4.9. *B. bifidum*'un Tek ve *L. acidophilus* ile Karışımı Şeklinde Üretilen Dondurmalarla Muhafaza Süresince Sayıların Değişimi

L. acidophilus ve *B. bifidum* bakterileri ile karışık olarak üretilen dondurmalarda depolama süresince belirlenen bakteri sayıları Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



Şekil 4.10. *L. acidophilus* ve *B. bifidum* ile Üretilen Dondurmalarındaki Muhafaza Süresince Bakteri Sayılarındaki Değişim

Üretilen karışık kültürlü dondurmalarındaki ortalama *L. acidophilus* sayısı ilk gün 7,05 log kob/g, *B. bifidum* sayısı ise 6,91 log kob/g bulunmuştur. Bakteri sayılarındaki farklılık, bakteri cinslerinin farklı olmasından, *B. bifidum*'un asitliğe ve oksijene karşı hassas olmasından veya dondurma işlemi sırasında *L. acidophilus*'a göre daha fazla zarar görmesinden kaynaklanmış olabilir. *L. acidophilus* sayısı muhafaza süresince *B. bifidum* sayısından genel olarak biraz daha yüksek seyretmiş, muhafaza periyodu sonunda ise değerler birbirine yaklaşmıştır (Şekil 4.10).

4.7.5. Koliform grubu bakteri sayısı

Deneme dondurma mikslerinde olduğu gibi incelenen tüm dondurma örneklerinde koliform grubu bakteri sayısı tespit edilebilir seviyenin altında (<10 log kob/g) bulunmuştur. Bu sonuç dondurma örneklerinin mikrobiyolojik kalitesinin yüksek olduğunu göstermektedir

4.7.6. *Enterobacteriaceae* sayısı

İncelenen tüm deneme dondurma örneklerinde *Enterobacteriaceae* grubu bakteri sayısı tespit edilebilir seviyenin altında (<10 log kob/g) bulunmuştur. Dondurma mikslерinin hazırlanması sırasında uygulanan ısıl işlem istenmeyen mikroorganizmaların tahrip olmasına yeterli gelmiştir. Dondurma üretim aşamasında ve ambalajlama sırasında gösterilen titizlik bu bakterilerin tekrar kontaminasyonunu önlemektedir. Bu sonuç da dondurma örneklerinin mikrobiyolojik kalitesinin yüksek olduğunu göstermektedir.

4.7.7. Maya- küf sayısı

İncelenen deneme dondurma örneklerinin hepsinde maya ve küf sayısı tespit edilebilir seviyenin altında (<100 log kob/g) bulunmuştur. Üretim ve muhafaza aşamalarında kontaminasyon olmamasına dikkat edildiğinden bu durum beklenen bir sonuçtur. Çünkü dondurma mikslерinde de maya ve küf bulunamamıştır (Bölüm 4.5.5).

4.7.8. Psikrotrofik bakteri sayısı

Denemede incelenen deneme dondurma örneklerinin tamamında psikrotrofik bakteri sayısı tespit edilebilir seviyenin altında (<100 log kob/g) bulunmuştur. Psikrotrofik bakteriler soğukta saklanan gıdalarda (<7°C'de) gelişebilmekte ve çeşitli enzimler oluşturmaktadırlar. Ancak bu bakteriler ısıtma işlemi sırasında tahrip oldukları için gıdalardaki bozulmalar oluşturdıkları enzimler tarafından meydana gelmektedir.

4.7.9. *Staphylococcus aureus* sayısı

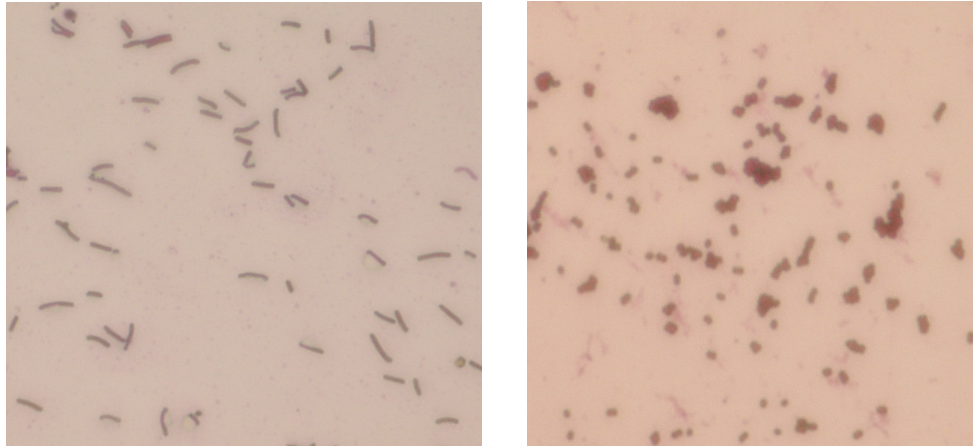
Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliği'ne göre dondurmalarda *S. aureus* bulunmaması gerektiği bildirilmiştir (Anonim 2004). İncelenen deneme dondurmalarında *S. aureus* sayısı tespit edilebilir seviyenin altında (<100 log kob/g) bulunmuştur. Bu sonuç dondurmaların hijyenik bir şekilde üretildiğini göstermektedir.

4.7.10. *Salmonella*

Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliği'ne göre 25 g-ml dondurma örneğinde *Salmonella* bulunmaması gerektiği bildirilmiştir (Anonim 2004). İncelenen deneme dondurmalarında *Salmonella* varlığı tespit edilememiştir.

4.7.11. *L. acidophilus* ve *B. bifidum* bakterilerinin mikroskopik görünüşleri

L. acidophilus ve *B. bifidum* bakterilerinin X- Glu ve BSM besiyeri üzerinde gelişen kolonilerinin, basit boyama yapıldıktan sonra mikroskop altında çekilen fotoğrafları Şekil 4.11'de sırasıyla gösterilmiştir.



Şekil 4.11. Sırasıyla *L. acidophilus* ve *B. bifidum* kolonilerinin Mikroskop Altındaki Görünümü

4.7.12. *L. acidophilus* ve *B. bifidum* bakterilerinin asitliğe direnç denemeleri

Diyete yardımcı olarak kullanılacak probiyotik kültürlerin seçiminde, aside ve safra tuzlarına karşı dayanıklı olmaları önemli fonksiyonel bir gereklilik olmaktadır. Bu gereklilik bakterilerin sindirim sisteminin üst bölgelerinden geçerken yüksek sayılarda canlı kalabilmesi, bağırsak içerisinde faydalı etkiler sunabilmesi ve bağırsak bölgesine

tutunup kolonize olmaları için zorunlu olmaktadır (Kalantzopoulou 1997; Blum *et al.* 1999). Midede kalma süresi diyetin protein, karbonhidrat ve yağ içeriğine bağlı olarak 1-3 saat arasında değişmektedir. Midedeki doğal HCl konsantrasyonu 170 mM olabilmekte ve pH yaklaşık 1'e kadar düşebilmektedir. Standart bir öğünden sonra midenin pH'sı 7,0'ye kadar yükselmekte ve yaklaşık her 10 ile 20 dakikada bir 1 pH'lık azalışlarla mide pH'sı şartlar tekrar eski değerine dönmektedir (Olejnik *et al.* 2005).

Aside dayanıklılık testlerinde 3 saatlik süre esas alınmıştır. Çünkü midenin tamamen boşalması maksimum 2-4 saat sürmektedir. *L. acidophilus* sayısının belirlenmesinde MRS agar kullanılmış ve bu ortamda yapılan sayımlar Çizelge 4.51'de verilmiştir.

Çizelge 4.51. Farklı pH Seviyelerinde Belirlenen *L. acidophilus* Sayıları (log kob/ml)

İnkübasyon Süresi (saat)	<i>L. acidophilus</i> sayıları (log kob/ml)				Ortalama
	pH 1	pH 2,5	pH 3,5	pH 5,5 (Kontrol)	
1	3.156	4.860	5.207	5.333	4.639
2	2.332	2.332	2.332	2.332	2.332
3	0,952	3.531	5.156	5.363	3.751
En düşük	0,952	2.332	2.332	2.332	1.987
En yüksek	3.156	4.860	5.207	5.363	4.647
Ortalama	2.147	3.574	4.232	4.343	3.574

Çizelgeden de görülebileceği gibi, en yüksek *L. acidophilus* sayısı (5,363 log kob/ml) inkübasyon süresinin sonunda kontrol grubunda, en düşük sayı ise (0,952 log kob/ml) pH'sı 1'e ayarlanmış PBS içeren tüpte 3 saat sonra tespit edilmiştir. İncelenen örneklerde inkübasyon süresince *L. acidophilus* sayısı 2,15- 4,34 log kob/ml arasında değişmiş ve ortalaması 3,57 log kob/ml olarak bulunmuştur (Çizelge 4.51).

Denemede belirlenen *L. acidophilus* sayılarına (log kob/ml) ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.52'de verilmiştir.

Çizelge 4.52. *L. acidophilus* Sayılarına (log kob/ml) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.055	0.055	455.026**
pH seviyesi (A)	3	39.026	13.009	107490.32**
İnkübasyon süresi (B)	2	3.176	1.588	13123.588**
A x B	6	3.556	0.593	4897.522**
Hata	11	0.001	0.000	
Genel	23	45.815	1.992	

** p<0,01 seviyesinde önemli

Çizelgeden de görülebileceği gibi (Çizelge 4.52), anavaryasyon kaynaklarından pH seviyesinin *L. acidophilus* sayısı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli (p<0,01) bulunmuştur. Farklı pH seviyelerinde belirlenen *L. acidophilus* sayılarına uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.53'de verilmiştir. Farklı pH seviyelerinde bulunan *L. acidophilus* sayıları kontrol grubundan istatistiki olarak farklı (p<0,01) bulunmuştur. pH 3,5 seviyesinde belirlenen *L. acidophilus* sayısı kontrol grubundan istatistiki olarak farklı (p<0,01) olmasına rağmen, değerler birbirine oldukça yakın bulunmuştur.

Çizelge 4.53. pH Seviyesi Değişkenine Ait *L. acidophilus* Sayısı (log kob/ml) Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

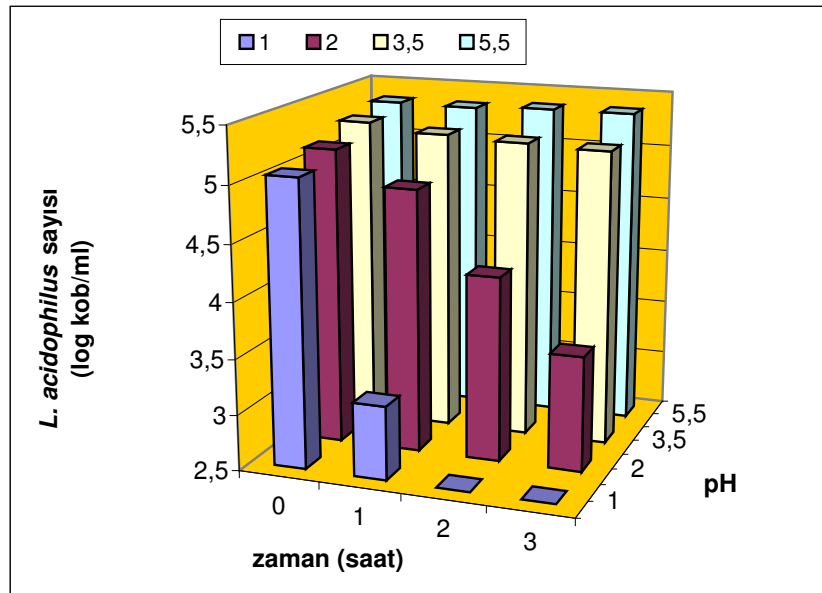
pH seviyesi	n	<i>L. acidophilus</i> sayısı
1	4	2,15 a
2	4	4,18 b
3,5	4	5,18 c
Kontrol	4	5, 35 d

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

Araştırmada *L. acidophilus* için pH 3,5 seviyesinde bulunan sayılar Erkkila and Petaja (2000) tarafından *L. sake* ve *L. pentosus* için pH 3 seviyesinde, Christiansen *et al.* (1996) tarafından *L. johnsonii* La 1 için pH 3,5 seviyesinde ve Godward *et al.* (2000) tarafından 6 farklı *L. acidophilus* suşu için pH 2 seviyesinde bulunan sayılardan daha düşük olmuştur. Bu durumun testlerde kullanılan bakteri cins ve suşları ile pH seviyelerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülebilir. Araştırmada pH 3,5

seviyesinde *L. acidophilus*'un ortalama %67,55 oranında canlı kaldığı bulunmuştur (Çizelge 4.57). Bulduğumuz bu değerin, Olejnik *et al.* (2005) tarafından pH 3 seviyesinde *L. acidophilus* için depolamanın 1. saatinde bulunan orandan düşük, 2. ve 3. saatlerde bulunan oranlara ise yakın olduğu saptanmıştır. Christiansen *et al.* (1996) *L. johnsonii* La 1 suşunun pH 2,5 ve 3,5 seviyesinde canlı kalma oranının kontrol grubundan istatistiki olarak farklı olmadığını bildirmişlerdir.

Varyans analizi sonuçlarından görülebileceği gibi pH seviyesi x inkübasyon süresi etkileşiminin *L. acidophilus* sayısı üzerine etkisi istatistiki olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuş (Çizelge 4.52), etkileşimin seyri Şekil 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.12. *L. acidophilus* Sayısı Üzerine Etkili Olan pH Seviyesi x İnkübasyon Süresi Etkileşimi

Şekilden de izlenebileceği gibi pH 1 seviyesinde 1 saatlik inkübasyondan sonra *L. acidophilus* sayısının kontrol grubuna (pH 5,5) göre önemli derecede azaldığı, 3 saat sonra ise *L. acidophilus* sayısının < 1 log kob/ml seviyesine kadar düştüğü görülmektedir. pH 2 seviyesindeki *L. acidophilus* sayısı > 4 log kob/ml olmasına

rağmen kontrol grubundan hala düşüktür. pH 3,5 seviyesinde bulunan sayılar ise kontrol grubuna yakın seyretmiştir.

Aynı pH seviyeleri ve aynı sürelerdeki *B. bifidum* sayımı için MRS agar kullanılmış ve bu ortamda bulunan sayılar Çizelge 4.54’de verilmiştir.

Çizelge 4.54. Farklı pH Seviyelerinde Belirlenen *B. bifidum* Sayıları (log kob/ml)

İnkübasyon Süresi (saat)	<i>B. bifidum</i> sayıları (log kob/ml)				Ortalama
	pH 1	pH 2,5	pH 3,5	pH 5,5 (Kontrol)	
1	2,923	4,525	5,176	5,373	4,499
2	2,099	4,050	5,079	5,332	4,140
3	0,923	3,540	4,943	5,231	3,659
En düşük	0,923	3,540	4,943	5,231	3,659
En yüksek	2,923	4,525	5,176	5,373	4,499
Ortalama	1,982	4,038	5,066	5,312	4,100

Çizelgeden de görülebileceği gibi (Çizelge 4.54), en yüksek *B. bifidum* sayısı (5,373 log kob/ml) inkübasyon süresinin başında kontrol grubunda, en düşük sayı (0,923 log kob/ml) pH’sı 1’e ayarlanmış PBS içerisindeki tüpte 3 saat sonra tespit edilmiştir. İnkübasyon süresince ortalama *B. bifidum* sayısı 4,10 log kob/ml bulunmuştur. Denemede belirlenen *B. bifidum* sayılarına (log kob/ml) ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.55’de verilmiştir.

Çizelge 4.55. *B. bifidum* Sayılarına (log kob/ml) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.032	0.032	8.684*
pH seviyesi (A)	3	41.371	13.790	3706.631**
İnkübasyon süresi (B)	2	2.843	1.421	382.041**
A x B	6	2.246	0.374	100.603**
Hata	11	0.041	0.004	
Genel	23	46.533	2.023	

* p<0,05 seviyesinde, ** p<0,01 seviyesinde önemli

Çizelgeden görülebileceği gibi (Çizelge 4.55), anavaryasyon kaynaklarından pH seviyesinin *B. bifidum* sayısı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Farklı pH seviyelerinde bulunan *B. bifidum* sayılarına uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.56'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.56. pH Seviyesi Değişkenine Ait *B. bifidum* Sayısı Ortalamalarının (log kob/ml) Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

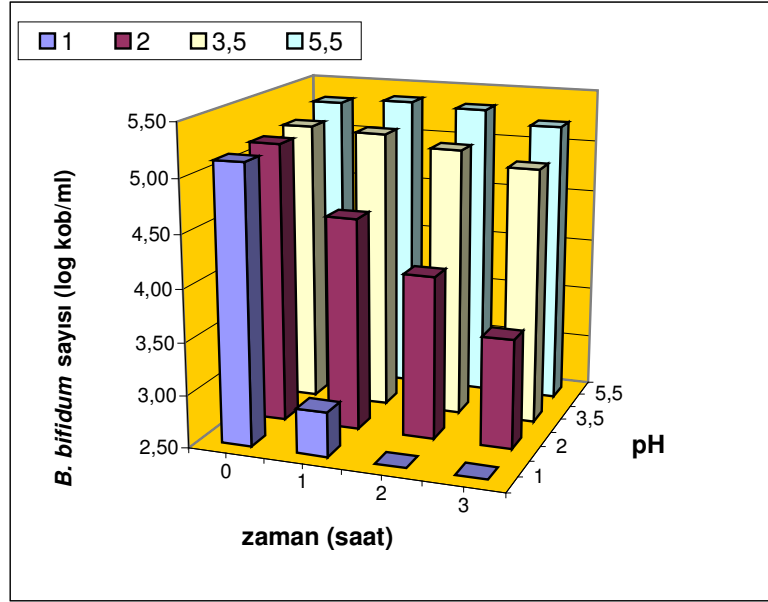
pH seviyesi	n	<i>B. bifidum</i> sayısı
1	4	1,98 a
2	4	4,04 b
3,5	4	5,07 c
Kontrol	4	5,31 d

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

Çizelgeden de izlenebileceği gibi farklı pH seviyesi ve sürelerdeki inkübasyonlardan sonra ortalama *B. bifidum* sayıları kontrol grubundan ve birbirlerinden istatistiki olarak farklı bulunmuştur. pH 3,5 seviyesindeki sayılar kontrol grubuna çok yakın olmasına rağmen değerler istatistiki olarak birbirinden farklı ($p<0,01$) olmuştur (Çizelge 4.56).

Araştırmada pH 3,5 seviyesinde belirlenen *B. bifidum* sayılarının, Godward *et al.* (2000) tarafından pH 2 seviyesinde *B. infantis*, *B. bifidum*, *B. animalis*, *B. pseudolongum*, *B. longum* ve *B. adolescentis* türleri için ve Saarela *et al.* (2004) tarafından pH 2,5 seviyesinde *B. animalis* için bulunan sayılardan daha düşük olduğu bulunmuştur. *B. bifidum*'un canlı kalma oranlarına bakıldığında ise bulunan sonuçların Olejnik *et al.* (2005) tarafından pH 3,5 seviyesinde 2 adet *B. bifidum* suşu için bulunan değerlerden düşük, 1 adet *B. bifidum* suşu için bulunan değerlere ise benzer olduğu saptanmıştır.

Varyans analizi sonuçlarından da görülebileceği gibi pH seviyesi x inkübasyon süresi interaksyonunun, *B. bifidum* sayısı üzerine etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuş (Çizelge 4.55), interaksyonun seyri Şekil 4.13'de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. *B. bifidum* Sayısı Üzerine Etkili Olan pH Seviyesi x İnkübasyon Süresi İnteraksiyonu

Şekilden de izlenebileceği gibi pH 1 seviyesindeki 1 saatlik inkübasyon sonunda *B. bifidum* sayısı önemli derecede azalmış, 3 saat sonra ise *B. bifidum* sayısı <1 log kob/ml seviyesine kadar düşmüştür. pH 2 seviyesindeki ortalama *B. bifidum* sayısı 4 log kob/ml olmasına rağmen değerler kontrol grubundan düşük bulunmuştur. pH 3,5 seviyesinde bulunan sayılar ise kontrol grubuna paralel seyretmiştir. pH 3,5 seviyesinde *L. acidophilus* ve *B. bifidum*' un canlı kalma oranları Çizelge 4.57'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.57. pH 3,5 Seviyesinde *L. acidophilus* ve *B. bifidum*'un Canlı Kalma Oranları*

İnkübasyon Süresi (saat)	Canlı Kalma Oranları (%)	
	<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>
1	74,92 a	63,58 a
2	65,74 b	55,85 ab
3	62,22 b	51,51 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

(**) p<0,01 seviyesinde önemli

4.8. Dondurma Örneklerinde Yapılan Duyusal Analiz Sonuçları

4.8.1. Renk ve görünüş

Bir ürünün duyusal özellikleri tüketicinin beğenisini belirleyen en önemli özelliklerden birisidir. Renk ve görünüş bu bakımdan duyusal değerlendirmelerde önemli bir kriterdir. Farklı krema oranı ve probiyotik bakterilerin ilavesiyle üretilen deneme dondurma örneklerinde belirlenen renk ve görünüş puanları Çizelge 4.58’de verilmiştir.

Çizelge 4.58. Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin Renk ve Görünüş Puanları (Tam puan: 9)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> ’lu		<i>B. bifidum</i> ’lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> ’lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	8,67	8,39	8,31	8,22	8,66	8,38	8,29	8,32	8,41
15	8,41	8,28	8,07	7,89	8,25	8,34	8,57	7,58	8,17
30	8,70	8,16	8,29	7,57	8,51	8,27	8,64	8,23	8,30
45	8,55	7,93	7,55	7,57	7,71	8,06	8,05	7,86	7,91
60	8,50	7,84	7,46	6,82	7,93	7,44	7,76	7,32	7,63
75	7,73	7,85	7,26	7,50	6,78	7,69	7,22	7,54	7,45
90	7,61	7,30	7,44	7,39	7,24	7,36	7,10	7,57	7,37
En düşük	7,61	7,30	7,26	6,82	6,78	7,36	7,10	7,32	7,19
En yüksek	8,70	8,39	8,31	8,22	8,66	8,38	8,64	8,32	8,45
Ortalama	8,31	7,96	7,77	7,56	7,87	7,93	7,95	7,77	7,89

Çizelgeden de görülebileceği gibi, en düşük renk ve görünüş puanı (6,78) muhafazanın 75. gününde %5 krema katkılı *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde, en yüksek renk ve görünüş puanı (8,70) depolamanın 30. gününde %5 krema katkılı kontrol grubu dondurma örneğinde bulunmuştur. Farklı oranlarda krema ve probiyotik bakteri katkısı ile üretilen dondurma çeşitlerinin renk ve görünüş puanları 7,56 ile 8,31 arasında değişmiş, genel ortalaması ise 7,89 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.58).

Dondurmalarda belirlenen renk ve görünüş puanlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.59’da verilmiştir. Anavaryasyon kaynaklarından krema katkısının,

deneme dondurmaların renk ve görünüş puanı üzerindeki etkisi önemli ($p<0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.59. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Renk ve Görünüş Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	0.143	0.143	0.971
Krema katkısı (A)	1	0.754	0.754	5.114*
Bakteri cinsi (B)	3	3.138	1.046	7.095**
A x B	3	0.624	0.208	1.411
Muhafaza süresi (C)	6	16.608	2.768	18.776**
A x C	6	2.576	0.429	2.912*
B x C	18	2.059	0.114	0.776
A x B x C	18	1.477	0.082	0.556
Hata	55	8.108	0.147	
Genel	111	35.486	0.320	

* $p<0,05$ seviyesinde, ** $p<0,01$ seviyesinde önemli

Krema katkısı değişkenine ait renk ve görünüş puanı ortalamaları Çizelge 4.60'da verilmiştir. Artan krema katkısının, deneme dondurma örneklerinin renk ve görünüş puanları üzerindeki etkisi olumsuz yönde olmuştur. Bu durum fazla kremanın dondurmanın rengini sarartmasından kaynaklanmış olabilir. Yine de tüm dondurma örneklerinin muhafaza süresi sonunda da çok iyiye yakın değerler aldığı görülmektedir.

Çizelge 4.60. Krema Katkısı Değişkenine Ait Renk ve Görünüş Puanı Ortalamaları *

Krema katkısı	n	Renk ve görünüş puanı
%5 krema katkılı	8	7,973 a
%10 krema katkılı	8	7,809 b

* Aynı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir ($p<0,05$)

Anavaryasyon kaynaklarından bakteri cinsinin, deneme dondurmaların renk ve görünüş puanları üzerindeki etkisi önemli ($p<0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.59). Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.61'de verilmiştir. Çizelgeden sadece *L. acidophilus* içeren dondurmaların renk ve görünüş puanları kontrol grubu dondurmalarından farklı bulunmuştur. En yüksek renk ve görünüş puanlarını kontrol

grubu dondurmalar alırken, bu dondurmaları *B. bifidum* ve *B. bifidum* + *L. acidophilus* içeren dondurmalar izlemiştir. Bu iki tip dondurmanın renk ve görünüş puanları istatistiki olarak kontrol grubuna benzer ($p<0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.61. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Renk ve Görünüş Puanı Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Bakteri cinsi	n	Renk ve görünüş puanları
Kontrol	8	8,14 a
<i>L. acidophilus</i>	8	7,67 b
<i>B. bifidum</i>	8	7,90 ab
<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	8	7,86 ab

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

Anavaryasyon kaynaklarından muhafaza süresinin, deneme dondurmaların renk ve görünüş puanları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.59). Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.62’de verilmiştir.

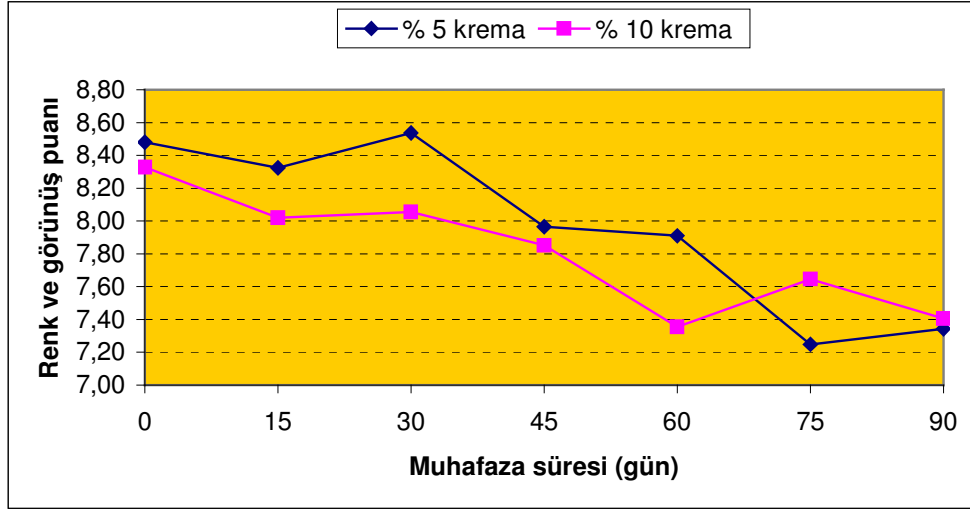
Çizelge 4.62. Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Renk ve Görünüş Puanı Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Muhafaza süresi (gün)	n	Renk ve görünüş puanı
1	8	8,40 a
15	8	8,17 ab
30	8	8,30 a
45	8	7,91 bc
60	8	7,63 cd
75	8	7,45 d
90	8	7,37 d

* Farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

Çizelgeden de görülebileceği gibi muhafaza süresince deneme dondurma örneklerinin renk ve görünüş puanları düşme eğilimi göstermiştir. En yüksek renk ve görünüş puanı depolamanın ilk 3 döneminde bulunmuştur. Depolamanın 1-30. günleri arasında belirlenen değerlerin birbirine benzer, diğer dönemlerde belirlenen renk ve görünüş puanlarından ise istatistiki olarak farklı ($p<0,01$) olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.62).

Varyans analiz sonuçlarından da görülebileceği gibi krema katkısı x muhafaza süresi interaksiyonunun deneme dondurmalarının renk ve görünüş puanları üzerine etkisi önemli ($p<0,05$) bulunmuş (Çizelge 4.59), interaksiyonun seyri Şekil 4.14’de gösterilmiştir.



Şekil 4.14. Renk ve Görünüş Puanı Üzerine Etkili Olan Krema Katkısı x Muhafaza Süresi İnteraksiyonu

Şekil 4.14’den de izlenebileceği gibi, muhafaza süresince dondurmaların renk ve görünüş puanları azalmıştır. %10 krema katkısı, dondurmaların renk ve görünüş puanlarını genel olarak daha fazla düşürmüştür. Kremanın yağ içeriğinin dolayısıyla da renginin daha sarımsı olmasının bu sonuca neden olduğu söylenebilir. Ancak dondurma örneklerinin muhafaza süresi boyunca hiç birinin “iyi” olarak değerlendirilen renk ve görünüş puanından daha aşağı puan almadıkları da ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.58).

4.8.2. Genel tekstür

Farklı krema oranı ve probiyotik bakterilerin ilavesiyle üretilen deneme dondurma örneklerinde belirlenen tekstür puanları Çizelge 4.63’de verilmiştir. Çizelgeden de görülebileceği gibi, en düşük tekstür puanı (7,08), muhafazanın 75. gününde %5 krema katkılı *L. acidophilus*+ *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde, en yüksek tekstür puanı (8,69), %5 krema katkılı kontrol grubu dondurma örneğinde depolamanın 75. gününde

bulunmuştur. Farklı krema oranı ve probiyotik bakterilerle üretilen dondurma çeşitlerinin tekstür puanları 7,83 ile 8,43 arasında değişmiş, genel ortalaması ise 8,21 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.63. Deneme Dondurma Çeşitlerinde Muhafaza Süresince Belirlenen Tekstür Puanları (Tam puan: 9)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> 'lu		<i>B. bifidum</i> 'lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	8,20	8,20	8,51	8,33	8,33	8,16	7,91	8,07	8,21
15	8,10	8,36	8,41	8,41	8,27	8,40	8,48	8,17	8,32
30	8,33	8,16	8,25	8,65	8,31	8,31	7,73	8,47	8,28
45	8,66	8,61	8,11	8,27	8,65	8,17	8,05	8,21	8,34
60	8,47	8,24	8,35	8,16	8,46	8,43	8,18	8,12	8,30
75	8,69	8,08	7,85	8,11	7,50	8,26	7,08	8,18	7,97
90	8,59	8,31	7,81	7,97	7,94	8,17	7,36	8,06	8,03
En düşük	8,10	8,08	7,81	7,97	7,50	8,16	7,08	8,06	7,85
En yüksek	8,69	8,61	8,51	8,65	8,65	8,43	8,48	8,47	8,56
Ortalama	8,43	8,28	8,18	8,27	8,21	8,27	7,83	8,18	8,21

Deneme dondurmalarına ait tekstür puanlarına uygulanan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.64'de verilmiştir.

Çizelge 4.64. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Tekstür Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	10.790	10.790	70.603**
Krema katkısı (A)	1	0.220	0.220	1.439
Bakteri cinsi (B)	3	1.817	0.606	3.963*
A x B	3	0.925	0.308	2.017
Muhafaza süresi (C)	6	2.140	0.357	2.334*
A x C	6	0.834	0.139	0.910
B x C	18	2.061	0.115	0.749
A x B x C	18	2.277	0.127	0.828
Hata	55	8.405	0.153	
Genel	111	29.470	0.265	

*p<0,05 seviyesinde, ** p<0,01 seviyesinde önemli

Çizelge 4.65. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Tekstür Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Bakteri cinsi	n	Tekstür puanı
Kontrol	8	8,357 a
<i>L. acidophilus</i>	8	8,227 a
<i>B. bifidum</i>	8	8,239 a
<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	8	8,004 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$)

Çizelgeden görülebileceği gibi (Çizelge 4.65) probiyotik bakteri katkılı dondurmaların tekstür puanları, kontrol grubu dondurmalarından biraz düşük bulunmuştur. Tek başına *L. acidophilus* ve *B. bifidum* içeren dondurmaların tekstür puanları kontrol grubundan istatistiki olarak farksız bulunurken, *L. acidophilus*+ *B. bifidum* içeren dondurmaların tekstür puanı kontrol grubundan farklı ($p < 0,05$) olmuştur.

Anavaryasyon kaynaklarından muhafaza süresinin, deneme dondurmaların tekstür puanları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p < 0,05$) bulunmuş (Çizelge 4.64), yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.66’da verilmiştir.

Çizelge 4.66. Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Tekstür Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Muhafaza süresi (gün)	n	Tekstür puanları
1	8	8,21 abc
15	8	8,32 a
30	8	8,28 ab
45	8	8,34 a
60	8	8,30 a
75	8	7,97 c
90	8	8,03 bc

* Aynı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir ($p < 0,05$)

Muhafaza süresince tekstür puanlarının bir miktar arttığı, depolama sonuna doğru ise azaldığı ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.66). Depolama süresince *L. acidophilus* içeren dondurmaların tekstür puanlarındaki azalma daha belirgin olmuştur. Kontrol grubu dondurmaların tekstür puanları ise depolama süresince artış göstermiştir. Bu sonucun, *L.*

acidophilus içeren dondurmaların fazla asitliğinden ileri geldiği düşünülmektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde; tüm dondurma örneklerinde saptanan tekstür puanları muhafaza süresince çok iyi olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.63).

4.8.3. Tat ve koku

Tat ve koku süt ürünlerinde aranan önemli nitelikler arasında yer almaktadır. Değişik probiyotik bakterilerin ilavesiyle üretilen deneme dondurma örneklerinde belirlenen tat ve koku puanları Çizelge 4.67’de verilmiştir.

Çizelge 4.67. Dondurma Çeşitlerinin Muhafaza Süresince Tespit Edilen Tat ve Koku Puanları (Tam puan: 9)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> ’lu		<i>B. bifidum</i> ’lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> ’lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	8,02	8,14	8,25	8,50	8,26	8,22	7,98	7,90	8,16
15	7,82	7,97	7,84	7,72	8,07	8,17	7,81	7,98	7,92
30	7,84	8,07	7,98	8,48	7,56	8,09	8,37	7,86	8,03
45	8,03	7,89	7,98	7,70	8,31	7,74	7,92	7,67	7,91
60	8,06	7,90	7,58	7,25	8,25	7,54	7,96	7,74	7,79
75	7,88	7,59	7,46	7,57	7,85	7,98	7,07	7,20	7,58
90	8,00	7,87	8,08	7,81	7,43	8,04	7,09	7,49	7,73
En düşük	7,82	7,59	7,46	7,25	7,43	7,54	7,07	7,20	7,42
En yüksek	8,06	8,14	8,25	8,50	8,31	8,22	8,37	7,98	8,23
Ortalama	7,95	7,92	7,88	7,86	7,96	7,97	7,74	7,69	7,87

Çizelgeden de görülebileceği gibi, en düşük tat ve koku puanı (7,07), depolamanın 75. gününde %5 krema katkılı *L. acidophilus*+ *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde, en yüksek tat ve koku puanı ise (8,50), muhafazanın ilk gününde %10 krema katkılı *L. acidophilus* içeren dondurma örneğinde bulunmuştur. Farklı oranlarda krema ve probiyotik bakteri ile üretilen dondurma çeşitlerinin tat ve koku puanları 7,69 ile 7,97 arasında değişmiş, genel ortalaması ise 7,87 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.67).

Deneme dondurmalarına ait tat ve koku puanlarına uygulanan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.68’de verilmiştir. Anavaryasyon kaynaklarından muhafaza süresinin, deneme dondurmaların tat ve koku puanları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,01$), krema katkısı ve bakteri cinsinin etkisi ise önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.68. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Tat ve Koku Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	1.181	1.181	9.499**
Krema katkısı (A)	1	0.016	0.016	0.126
Bakteri cinsi (B)	3	1.019	0.340	2.733
A x B	3	0.011	0.004	0.029
Muhafaza süresi (C)	6	3.655	0.609	4.899**
A x C	6	1.144	0.191	1.533
B x C	18	3.386	0.188	1.513
A x B x C	18	1.774	0.099	0.793
Hata	55	6.838	0.124	
Genel	111	19.023	0.171	

** $p<0,01$ seviyesinde önemli

Deneme dondurmaların tat ve koku puanları üzerine uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre (Çizelge 4.69) muhafaza süresince deneme dondurma örneklerinin tat ve koku puanları düşme eğilimi göstermiştir. En yüksek tat ve koku puanı muhafazanın ilk gününde bulunmuştur. Depolamanın 45. gününe kadar belirlenen puanların ilk gün belirlenen puana istatistiki olarak benzer olduğu bulunmuştur. Depolamanın 60. gününden itibaren bulunan tat ve koku puanları ilk gün belirlenen değerden farklı, yine depolamanın son döneminde belirlenen değer 45. güne kadar bulunan değerlerden istatistiki olarak farklı ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir.

Anavaryasyon kaynaklarından krema katkısı ve bakteri cinsinin, deneme dondurmaların tat ve koku puanı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuş ve incelenmemiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde; dondurma çeşitlerinin muhafaza süresince aldıkları tat ve koku puanları yüksek olup, 3 aylık sürede beğenilerek tüketilebileceklerini göstermektedir.

Çizelge 4.69. Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Tat ve Koku Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Muhafaza süresi (gün)	n	Tat ve koku puanları
1	8	8,16 a
15	8	7,92 ab
30	8	8,03 ab
45	8	7,91 abc
60	8	7,79 bc
75	8	7,58 bc
90	8	7,73 c

* Farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

4.8.4. Şekerlilik

Farklı probiyotik bakterilerin ilavesiyle üretilen deneme dondurma örneklerinde belirlenen şekerlilik puanları toplu olarak Çizelge 4.70’de verilmiştir.

Çizelge 4.70. Deneme Dondurma Çeşitlerinin Muhafaza Süresince Belirlenen Şekerlilik Puanları (Tam puan: 9)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> ’lu		<i>B. bifidum</i> ’lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> ’lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	7,08	6,98	7,38	7,27	7,43	7,52	7,05	7,15	7,23
15	7,28	6,48	6,88	7,23	7,10	6,97	7,27	7,25	7,06
30	6,93	6,24	7,67	7,37	7,31	6,94	6,55	6,92	6,99
45	6,80	6,96	7,40	7,07	6,81	7,10	7,20	6,84	7,02
60	7,00	6,77	7,26	6,40	6,68	6,74	6,96	6,99	6,85
75	6,75	6,36	7,38	7,22	6,87	6,93	6,71	6,86	6,89
90	6,88	6,26	7,38	6,96	6,85	6,90	6,73	6,84	6,85
En düşük	6,75	6,24	6,88	6,40	6,68	6,74	6,55	6,84	6,63
En yüksek	7,28	6,98	7,67	7,37	7,43	7,52	7,27	7,25	7,34
Ortalama	6,96	6,58	7,34	7,07	7,01	7,01	6,92	6,98	6,98

Çizelgeden de görülebileceği gibi, en düşük şekerlilik puanı (6,24), muhafazanın 30. gününde %10 krema katkılı kontrol grubu dondurma örneğinde, en yüksek şekerlilik puanı ise (7,67), muhafazanın 30. gününde %5 krema katkılı *L. acidophilus* içeren

dondurma örneğinde bulunmuştur. Farklı oranlarda krema ve probiyotik bakteri ile üretilen dondurma çeşitlerinin şekerlilik puanlarının 6,58 ile 7,34 arasında değiştiği, genel ortalamasının ise 6,98 olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.70).

Deneme dondurmaların şekerlilik puanlarına uygulanan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.71’de gösterilmiştir. Çizelgeden de izlenebileceği gibi, anavaryasyon kaynaklarından bakteri cinsinin, deneme dondurmaların şekerlilik puanı üzerindeki etkisinin, istatistiki olarak önemli ($p<0,01$), krema katkısı ve muhafaza süresinin ise önemsiz olduğu ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.71. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Şekerlilik Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	46.270	46.270	312.189**
Krema katkısı (A)	1	0.587	0.587	3.962
Bakteri cinsi (B)	3	2.741	0.914	6.165**
A x B	3	0.931	0.310	2.093
Muhafaza süresi (C)	6	1.821	0.304	2.048
A x C	6	0.226	0.038	0.254
B x C	18	2.520	0.140	0.945
A x B x C	18	1.841	0.102	0.690
Hata	55	8.152	0.148	
Genel	111	65.089	0.586	

** $p<0,01$ seviyesinde önemli

Bakteri cinsine ait şekerlilik puanları üzerine uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre (Çizelge 4.72), sadece *B. bifidum* ile *L. acidophilus* + *B. bifidum* içeren dondurmaların şekerlilik puanları kontrol grubu dondurmaların puanlarından yüksek olmuş fakat aradaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. *L. acidophilus* içeren dondurma örneklerinin şekerlilik puanları ise diğer tüm dondurmalarından yüksek bulunmuştur. Bu dondurmanın şekerlilik puanı kontrol örneğinden istatistiki olarak farklı olurken diğer dondurmaların puanlarına benzer bulunmuştur. *L. acidophilus* içeren dondurmalarındaki asitlik şeker tadını maskeleyiği için böyle bir sonuç alınmış ve

daha çok beğenilmiş olabilir. Ayrıca deneme dondurmalarında krema oranı arttıkça, dondurmaların şekerlilik puanları azalmıştır.

Çizelge 4.72. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Şekerlilik Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Bakteri cinsi	n	Şekerlilik puanı
Kontrol	8	6,77 a
<i>L. acidophilus</i>	8	7,21 b
<i>B. bifidum</i>	8	7,01 ab
<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	8	6,95 ab

*Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

4.8.5. Krema tadı

Farklı probiyotik bakterilerin ilavesiyle üretilen deneme dondurma örneklerinde belirlenen krema tadı puanları Çizelge 4.73’de verilmiştir.

Çizelge 4.73. Deneme Dondurma Çeşitlerinin Muhafaza Süresince Belirlenen Krema Tadı Puanları (Tam puan: 9)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> ’lu		<i>B. bifidum</i> ’lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> ’lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	7,73	7,40	7,66	7,56	7,88	7,39	7,19	7,56	7,55
15	7,29	6,94	7,28	7,31	7,14	7,33	7,52	7,25	7,26
30	7,20	7,10	7,45	6,74	7,23	7,22	7,24	7,11	7,16
45	7,46	6,89	7,13	6,85	7,51	7,36	7,43	7,03	7,21
60	7,40	6,27	7,51	6,90	7,45	6,63	7,10	6,85	7,00
75	7,05	7,10	7,25	7,18	6,74	7,34	7,06	7,03	7,09
90	7,08	7,19	6,89	7,27	7,18	7,40	6,69	7,17	7,11
En düşük	7,05	6,17	6,89	6,74	6,74	6,63	6,69	6,85	6,72
En yüksek	7,73	7,40	7,66	7,56	7,88	7,40	7,52	7,56	7,59
Ortalama	7,32	6,97	7,31	7,12	7,30	7,24	7,17	7,14	7,20

Çizelgeden de görülebileceği gibi, en düşük krema tadı puanı (6,27), muhafazanın 60. gününde %10 krema katkılı kontrol grubu dondurma örneğinde, en yüksek krema tadı

puanı ise (7,88), depolamanın ilk gününde %5 krema katkılı *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde bulunmuştur. Farklı oranlarda krema ve probiyotik bakteri ile üretilen dondurma çeşitlerinin krema tadı puanları 6,97 ile 7,32 arasında değişmiş, genel ortalaması ise 7,20 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.73).

Deneme dondurmalarla ait krema tadı puanlarına uygulanan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.74'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.74. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Krema Tadı Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	2.872	2.872	19.151**
Krema katkısı (A)	1	0.707	0.707	4.713*
Bakteri cinsi (B)	3	0.280	0.093	0.623
A x B	3	0.420	0.140	0.933
Muhafaza süresi (C)	6	2.946	0.491	3.274**
A x C	6	2.657	0.443	2.953*
B x C	18	1.170	0.065	0.433
A x B x C	18	1.466	0.081	0.543
Hata	55	8.248	0.150	
Genel	111	20.766	0.187	

* $p < 0,05$ seviyesinde, ** $p < 0,01$ seviyesinde önemli

Çizelgeden de görülebileceği gibi krema katkısının, deneme dondurmaların krema tadı puanları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuş, krema katkısına ait krema tadı puanları ortalamaları Çizelge 4.75'de verilmiştir.

Çizelge 4.75. Krema Katkısı Değişkenine Ait Krema Tadı Puanları Ortalamaları *

Krema katkısı	n	Krema tadı puanları
%5 krema katkılı	8	7,23 a
%10 krema katkılı	8	7,12 b

*Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$)

Çizelgeden de görülebileceği gibi (Çizelge 4.75), krema oranı arttıkça dondurmaların tat puanları azalmıştır. Yani %5 krema içeren dondurmalar daha fazla beğenilmiştir.

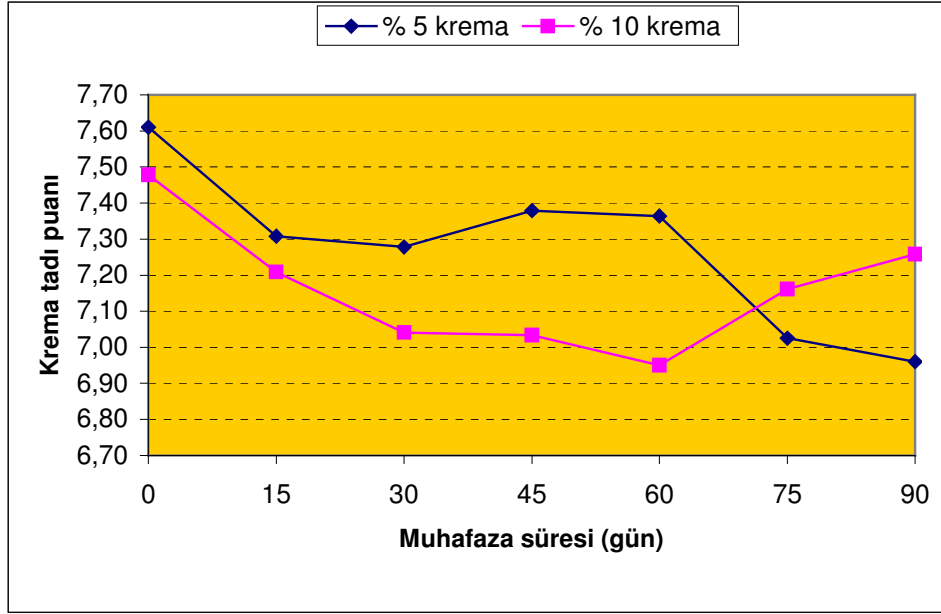
Anavaryasyon kaynaklarından muhafaza süresinin, dondurmaların krema tadı puanları üzerindeki etkisi önemli ($p<0,01$) bulunmuş (Çizelge 4.74), yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.76'da verilmiştir. Çizelgeden de görülebileceği gibi muhafaza süresince deneme dondurma örneklerinin krema tadı puanları azalmıştır. En yüksek krema tadı puanı depolamanın ilk gününde bulunmuştur. Depolamanın 60. gününden itibaren bulunan krema tadı puanları ilk gün belirlenen değerden istatistiki olarak farklı ($p<0,01$), depolamanın son 3 döneminde bulunan değerlerin ise istatistiki olarak birbirlerinin aynısı olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.76. Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Krema Tadı Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Muhafaza süresi (gün)	n	Krema tadı puanları
1	8	7,55 a
15	8	7,26 ab
30	8	7,16 b
45	8	7,21 ab
60	8	7,01 b
75	8	7,09 b
90	8	7,11 b

* Farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

Varyans analizi sonuçlarından da izlenebileceği gibi krema katkısı x muhafaza süresi interaksyonunun, deneme dondurmaların krema tadı puanları üzerine etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) bulunmuş (Çizelge 4.74), interaksyonun seyri Şekil 4.15'de gösterilmiştir. Muhafaza süresince dondurmaların krema tadı puanları dalgalı bir seyir izlemiştir. %10 krema katkılı dondurmaların krema tadı puanı, muhafaza sonunda %5 krema katkılı dondurmalarından daha yüksek çıkmıştır. Depolamanın ilk 3 periyodunda puanlar düşme eğilimi göstermiştir. 30- 60. günler arasında puanlar nispeten dengede kalmış ancak son dönemlerde tüm dondurma örneklerinin krema tadı puanları düşme eğilimini tekrarlamıştır (Şekil 4.15). Ancak dondurmaların hiçbir çeşidi orta, kötü ve çok kötü diye nitelendirilecek puanları almamıştır (Çizelge 4.73).



Şekil 4.15. Krema Tadı Puanı Üzerine Etkili Olan Krema Katkısı x Muhafaza Süresi İnteraksiyonu

4.8.6. Fermente süt tadı

Değişik oranda krema ilavesiyle, farklı probiyotik bakterilerle üretilen ve değişik sürelerde muhafaza edilen deneme dondurmalarında belirlenen fermente süt tadı puanları Çizelge 4.77’de verilmiştir.

Çizelgeden de görülebileceği gibi, en düşük fermente süt tadı puanı (7,16), depolamanın 75. gününde %5 krema katkılı *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde, en yüksek fermente süt tadı puanı ise (8,43), depolamanın 45. gününde %10 krema katkılı kontrol grubu dondurma örneğinde bulunmuştur. Farklı oranlarda krema ve probiyotik bakteri ile üretilen dondurma çeşitlerinin fermente süt tadı puanları 7,65 ile 8,21 arasında değişmiş, genel ortalaması ise 7,83 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.77).

Çizelge 4.77. Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin Fermente Süt Tadı Puanları (Tam puan: 9)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> 'lu		<i>B. bifidum</i> 'lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	8,30	8,42	8,04	8,00	8,32	8,23	7,74	7,71	8,10
15	8,10	8,38	7,70	7,74	7,99	8,03	8,17	7,62	7,97
30	7,93	8,35	7,97	7,39	7,81	7,17	7,87	7,52	7,75
45	8,22	8,43	7,80	7,98	7,82	7,77	8,06	7,62	7,96
60	7,96	8,04	7,78	7,26	7,95	7,56	7,43	7,83	7,73
75	7,71	7,90	7,61	8,25	7,16	7,92	7,21	7,81	7,70
90	7,90	7,94	7,57	7,64	7,54	7,55	7,23	7,44	7,60
En düşük	7,71	7,90	7,57	7,26	7,16	7,17	7,21	7,44	7,43
En yüksek	8,30	8,43	8,04	8,25	8,32	8,23	8,17	7,83	8,20
Ortalama	8,02	8,21	7,78	7,75	7,80	7,75	7,67	7,65	7,83

Deneme dondurmalarında belirlenen fermente süt tadı puanlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.78'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.78. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Fermente Süt Tadı Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	3.015	3.015	22.219**
Krema katkısı (A)	1	0.012	0.012	0.091
Bakteri cinsi (B)	3	3.252	1.084	7.990**
A x B	3	0.272	0.091	0.667
Muhafaza süresi (C)	6	3.104	0.517	3.813**
A x C	6	1.592	0.265	1.956
B x C	18	1.644	0.091	0.673
A x B x C	18	1.846	0.103	0.756
Hata	55	7.462	0.136	
Genel	111	22.200	0.200	

** p<0,01 seviyesinde önemli

Anavaryasyon kaynaklarından bakteri cinsi ve muhafaza süresinin, deneme dondurmaların fermente süt tadı puanları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli (p<0,01) bulunmuştur (Çizelge 4.78).

Deneme dondurmalarında bakteri cinsi değişkenine ait fermente süt tadı puanlarına uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre (Çizelge 4.79), en yüksek puanı kontrol grubu dondurma örnekleri alırken bu dondurmaya *B. bifidum* içeren dondurmalar takip etmiştir. En düşük puanı ise *L. acidophilus* içeren dondurmalar almıştır. Probiyotik bakteri içeren dondurmaların aldıkları puanların, kontrol grubundan istatistiki olarak farklı olduğu ($p<0,01$) bulunmuştur. Bu bulgu fermentasyon işleminin dondurmalarda hissedilebilirliğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.79. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Fermente Süt Tadı Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Bakteri cinsi	n	Fermente süt tadı puanı
Kontrol	8	8,113 a
<i>L. acidophilus</i>	8	7,765 b
<i>B. bifidum</i>	8	7,773 b
<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	8	7,660 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

Muhafaza süresi değişkenine ait fermente süt tadı puanlarına uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.80’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.80. Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Fermente Süt Tadı Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Muhafaza süresi (gün)	n	Fermente süt tadı puanı
1	8	8,09 a
15	8	7,97 ab
30	8	7,75 abc
45	8	7,96 ab
60	8	7,73 bc
75	8	7,70 bc
90	8	7,60 c

* Farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

Muhafaza süresince deneme dondurma örneklerinin fermente süt tadı puanları düşme eğilimi göstermiştir. En yüksek puan depolamanın ilk döneminde bulunmuştur. Muhafazanın 60. gününe kadar belirlenen fermente süt tadı puanlarının ilk gün bulunan

değere istatistiki olarak benzediği, 60. gününden itibaren saptanan fermente süt tadı puanlarının ise depolamanın ilk gününde belirlenen değerden istatistiki olarak farklı ($p<0,01$) olduğu bulunmuştur.

Hagen and Narvhus (1999), probiyotik tat bakımından *B. bifidum* ve *L. acidophilus* içeren dondurmaların kontrol grubu dondurmalarla yakın puanlar aldıklarını, probiyotik tadın en fazla *L. reuteri* içeren dondurmelerde hissedildiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmada da tek başına *L. acidophilus* veya *B. bifidum* ile üretilen dondurmaların kontrol grubu dondurmalarla en yakın sonuçları aldığı bulunmuştur.

4.8.7. Yabancı tat

Farklı oranda krema katılarak, farklı probiyotik bakterilerle üretilen ve değişik sürelerde depolanan deneme dondurmalarında belirlenen yabancı tat puanları Çizelge 4.81’de verilmiştir.

Çizelge 4.81. Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurmalarının Yabancı Tat Puanları (Hissedilmeyen puan: 9)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> ’lu		<i>B. bifidum</i> ’lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> ’lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	8,06	8,80	7,96	8,54	7,19	8,19	7,43	8,25	8,05
15	8,22	8,24	7,42	8,06	7,26	7,89	7,21	7,91	7,78
30	8,29	8,52	7,06	7,28	7,46	7,57	7,11	7,76	7,63
45	7,99	8,27	6,99	8,14	7,33	7,61	6,93	7,50	7,60
60	8,20	7,74	7,66	7,40	7,50	6,92	6,96	8,18	7,57
75	7,63	7,69	7,06	7,59	6,89	7,69	7,18	7,96	7,46
90	7,69	7,59	7,23	7,51	7,48	7,98	7,18	7,22	7,49
En düşük	7,63	7,59	6,99	7,28	6,89	6,92	6,93	7,22	7,18
En yüksek	8,29	8,80	7,96	8,54	7,50	8,19	7,43	8,25	8,12
Ortalama	8,01	8,12	7,34	7,79	7,30	7,69	7,14	7,83	7,65

Çizelgeden de görülebileceği gibi, en düşük yabancı tat puanı (6,89), depolamanın 75. gününde %5 krema katkılı *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde, en yüksek yabancı tat

puanı (8,80), depolamanın ilk gününde %10 krema katkılı kontrol grubu dondurma örneğinde bulunmuştur. Farklı oranlarda krema ve probiyotik bakteri ile üretilen dondurma çeşitlerinin yabancı tat puanları 7,14 ile 8,12 arasında değişmiş, genel ortalaması ise 7,65 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.81).

Deneme dondurmaların yabancı tat puanlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.82’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.82. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Yabancı Tat Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	3.015	3.015	22.219**
Krema katkısı (A)	1	0.012	0.012	0.091
Bakteri cinsi (B)	3	3.252	1.084	7.990**
A x B	3	0.272	0.091	0.667
Muhafaza süresi (C)	6	3.104	0.517	3.813**
A x C	6	1.592	0.265	1.956
B x C	18	1.644	0.091	0.673
A x B x C	18	1.846	0.103	0.756
Hata	55	7.462	0.136	
Genel	111	22.200	0.200	

** p<0,01 seviyesinde önemli

Anavaryasyon kaynaklarından bakteri cinsi ve muhafaza süresinin, dondurmaların yabancı tat puanları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,01$), krema katkısının etkisi ise önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.82).

Bakteri cinsi değişkenine ait yabancı tat puanlarına uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre (Çizelge 4.83), en yüksek puanı kontrol grubu dondurma örnekleri alırken, bunları *L. acidophilus* içeren dondurmalar takip etmiştir. En düşük puanları ise *B. bifidum* içeren dondurmalar almıştır. Bu sonucun, *B. bifidum*’un heterofermantatif bir bakteri olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Fermantasyon sonucu ortaya çıkan çeşitli ürünler yabancı tadın oluşumuna neden olmuş olabilir.

Çizelge 4.83. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Yabancı Tat Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Bakteri cinsi	n	Yabancı tat puanı
Kontrol	8	8,066 a
<i>L. acidophilus</i>	8	7,564 b
<i>B. bifidum</i>	8	7,496 b
<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	8	7,483 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

Deneme dondurmalarında muhafaza süresince belirlenen yabancı tat puanları üzerine uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.84’de verilmiştir.

Çizelge 4.84. Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Yabancı Tat Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Muhafaza süresi (gün)	n	Yabancı tat puanı
1	8	8,052 a
15	8	7,776 ab
30	8	7,629 b
45	8	7,595 b
60	8	7,568 b
75	8	7,485 b
90	8	7,459 b

* Farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

Çizelgeden de görülebileceği gibi muhafaza süresince deneme dondurmalarının yabancı tat puanları nispeten sabit kalmıştır. En yüksek puan depolamanın ilk gününde bulunmuştur. Depolamanın 30. gününe kadar belirlenen puanlar depolamanın ilk gününde bulunan puana benzer olmuştur. Depolamanın geri kalan dönemlerde bulunan değerler ise istatistiki olarak birbirinin aynısı bulunmuştur (Çizelge 4.84). Bu sonuç depolama süresince yabancı tadın fazla gelişmediğini göstermektedir. Depolama süresince dondurmaların asitlik ve pH değerlerinde meydana gelen değişimin de çok az olması (Çizelge 4.33 ve 4.36) bu bulguyu doğrulamaktadır.

4.8.8. Ağızda bıraktığı his

Farklı oranda krema katılarak, probiyotik bakterilerle üretilen ve değişik sürelerde muhafaza edilen deneme dondurmalarında belirlenen ağızda bıraktığı his puanları Çizelge 4.85’de verilmiştir.

Çizelge 4.85. Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurmalarının Ağızda Bıraktığı His Puanları (Tam puan: 9)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> ’lu		<i>B. bifidum</i> ’lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> ’lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	7,67	7,41	7,44	7,23	7,19	7,36	7,43	7,31	7,38
15	7,67	7,50	7,29	7,38	7,12	7,38	7,54	7,34	7,40
30	7,68	7,44	7,03	7,24	7,44	6,70	7,00	6,93	7,18
45	7,61	7,32	7,13	7,49	7,54	6,83	6,92	7,02	7,23
60	7,56	7,35	7,24	7,06	7,29	7,03	6,99	7,22	7,22
75	7,37	7,27	7,14	7,26	6,77	7,38	6,98	7,08	7,16
90	7,35	7,33	7,24	7,17	7,39	7,35	6,98	6,40	7,15
En düşük	7,35	7,27	7,03	7,06	6,77	6,70	6,92	6,40	6,94
En yüksek	7,68	7,50	7,44	7,49	7,54	7,38	7,54	7,34	7,49
Ortalama	7,56	7,37	7,22	7,26	7,25	7,15	7,12	7,04	7,25

Çizelgeden görülebileceği gibi, dondurmalarda en düşük ağızda bıraktığı his puanı (6,40), depolamanın 90. gününde %10 krema katkılı *L. acidophilus*+ *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde, en yüksek puan ise (7,68), depolamanın 30. gününde %5 krema katkılı kontrol grubu dondurma örneğinde bulunmuştur. Farklı oranlarda krema ve probiyotik bakteri ile üretilen dondurma çeşitlerinin ağızda bıraktığı his puanları 7,04 ile 7,56 arasında değişmiş, genel ortalaması ise 7,25 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.85).

Genel olarak değerlendirildiğinde; muhafaza süresince tüm dondurma çeşitlerinin ”iyi” olarak değerlendirilen puanları aldığı söylenebilir. Dondurmaların ağızda bıraktığı his puanlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.86’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.86. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Ağızda Bıraktığı His Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	2.303	2.303	30.395**
Krema katkısı (A)	1	0.174	0.174	2.300
Bakteri cinsi (B)	3	2.181	0.727	9.591**
A x B	3	0.187	0.062	0.822
Muhafaza süresi (C)	6	1.024	0.171	2.252*
A x C	6	0.429	0.072	0.944
B x C	18	1.278	0.071	0.937
A x B x C	18	1.836	0.102	1.346
Hata	55	4.168	0.076	
Genel	111	13.580	0.122	

* $p < 0,05$ seviyesinde, ** $p < 0,01$ seviyesinde önemli

Anavaryasyon kaynaklarından bakteri cinsinin, ağızda bıraktığı his puanları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuş, yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.87’de verilmiştir.

Çizelge 4.87. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Ağızda Bıraktığı His Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Bakteri cinsi	n	Ağızda bıraktığı his puanı
Kontrol	8	7,47 a
<i>L. acidophilus</i>	8	7,24 b
<i>B. bifidum</i>	8	7,20 b
<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	8	7,08 b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,01$)

Deneme dondurmalarında en yüksek ağızda his puanı kontrol grubu dondurma örneklerinde bulunurken bunları tek başına *L. acidophilus* içeren dondurmalar takip etmiştir. En düşük puanları ise *L. acidophilus* + *B. bifidum* içeren dondurmalar almıştır. Probiyotik dondurma tiplerinin aldığı puanlar arasında bir miktar fark olmasına rağmen bu farklılık istatistiki olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmamıştır. Kontrol grubu dondurmaların aldığı puan ise diğer tüm dondurmalarından istatistiki olarak farklı bulunmuştur.

Anavaryasyon kaynaklarından muhafaza süresinin, ağızda bıraktığı his puanları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.86). Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından da görülebileceği gibi (Çizelge 4.88) muhafaza süresince deneme dondurma örneklerinin ağızda bıraktığı his puanları genel olarak düşme eğilimi göstermiştir. En yüksek puanlar depolamanın ilk iki döneminde bulunmuştur.

Çizelge 4.88. Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Ağızda Bıraktığı His Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Muhafaza süresi (gün)	n	Ağızda bıraktığı his puanı
1	8	7,38 a
15	8	7,40 a
30	8	7,18 b
45	8	7,23 ab
60	8	7,22 ab
75	8	7,16 b
90	8	7,15 b

* Farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

Anavaryasyon kaynaklarından krema katkısı ve çeşitli interaksyonların, deneme dondurmaların ağızda bıraktığı his puanları üzerindeki etkileri istatistiki olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.86).

4.8.9. Genel kabuledilebilirlik

Deneme dondurmalarında muhafaza süresince belirlenen genel kabuledilebilirlik puanları Çizelge 4.89'da verilmiştir. En düşük genel kabuledilebilirlik puanı (6,54), depolamanın 60. gününde %10 krema katkılı *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde, en yüksek genel kabuledilebilirlik puanı ise (7,77), depolamanın 30. gününde %5 krema katkılı kontrol grubu dondurmada bulunmuştur. Farklı oranda krema ve probiyotik bakteri ile üretilen dondurma çeşitlerinin genel kabuledilebilirlik puanları 7,04 ile 7,50 arasında değişmiş, genel ortalamasının ise 7,20 olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.89. Farklı Sürelerde Muhafaza Edilen Deneme Dondurma Çeşitlerinin Genel Kabul Edilebilirlik Puanları (Tam puan: 9)

Muhafaza süresi (gün)	Kontrol		<i>L. acidophilus</i> 'lu		<i>B. bifidum</i> 'lu		<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'lu		Ortalama
	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	%5 krema	%10 krema	
1	7,63	7,48	7,52	7,32	7,19	7,24	7,43	7,41	7,40
15	7,53	7,46	7,39	7,12	7,27	7,00	7,34	7,26	7,30
30	7,77	7,39	7,14	6,81	7,16	7,34	7,02	7,39	7,25
45	7,46	7,12	7,00	7,24	7,46	7,12	6,81	7,04	7,16
60	7,63	6,57	7,18	7,10	7,59	6,54	6,85	6,90	7,04
75	7,34	7,27	7,17	7,22	6,77	7,07	6,98	7,23	7,13
90	7,14	7,40	7,26	7,26	6,99	7,06	6,86	7,00	7,12
En düşük	7,14	6,57	7,00	6,81	6,77	6,54	6,81	6,90	6,82
En yüksek	7,77	7,48	7,52	7,32	7,59	7,34	7,43	7,41	7,48
Ortalama	7,50	7,24	7,24	7,15	7,20	7,05	7,04	7,17	7,20

Deneme probiyotik dondurmaların genel kabul edilebilirlik puanlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.90'da verilmiştir.

Çizelge 4.90. Deneme Dondurmalarında Belirlenen Genel Kabuledilebilirlik Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KT	KO	F değeri
Bloklar	1	5.398	5.398	65.946**
Krema katkısı (A)	1	0.222	0.222	2.716
Bakteri cinsi (B)	3	1.203	0.401	4.899**
A x B	3	0.567	0.189	2.309
Muhafaza süresi (C)	6	1.455	0.242	2.962*
A x C	6	1.208	0.201	2.459
B x C	18	1.258	0.070	0.854
A x B x C	18	1.457	0.081	0.989
Hata	55	4.502	0.082	
Genel	111	17.270	0.156	

* p<0,05 seviyesinde, ** p<0,01 seviyesinde önemli

Çizelgeden de görülebileceği gibi, anavaryasyon kaynaklarından bakteri cinsinin, deneme dondurmaların genel kabul edilebilirlik puanı üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli (p<0,01) bulunmuştur (Çizelge 4.90).

Çizelge 4.91. Bakteri Cinsi Değişkenine Ait Genel Kabuledilebilirlik Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Bakteri cinsi	n	Genel kabuledilebilirlik puanı
Kontrol	8	7,370 a
<i>L. acidophilus</i>	8	7,193 ab
<i>B. bifidum</i>	8	7,127 b
<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	8	7,107 b

*Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,01$)

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre (Çizelge 4.91), en yüksek genel kabuledilebilirlik puanlarını kontrol grubu dondurmalar almış, bu dondurmaları sadece *L. acidophilus* içeren dondurmalar takip etmiştir. En düşük puanları her iki bakteriyi de içeren dondurmalar almıştır. Kontrol ve tekli *L. acidophilus* içeren dondurmaların genel kabuledilebilirlik puanları arasında bir miktar fark olmasına rağmen bulunan değerler istatistiki olarak birbirine benzer olmuştur.

Hekmat and McMahon (1992), probiyotik dondurmaların duyuşal olarak değerlendirilmesinde pH 5,5 seviyesinde üretilen dondurmaların kabul edilebilirliğin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Hagen and Narvhus (1999), *B. bifidum* içeren dondurmaların kabul edilebilirliğinin en yüksek olduğunu, bu dondurmaları *L. acidophilus* içeren dondurmaların takip ettiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da *L. acidophilus* içeren nispeten daha yüksek asitli dondurmalar kontrol grubuna en yakın puanları almıştır. Ayrıca, genel olarak tüm dondurmaların sevilerek tüketildiği de ortaya çıkmıştır.

Ana varyasyon kaynaklarından muhafaza süresinin, deneme dondurmaların genel kabuledilebilirlik puanları üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.90). Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.92’de gösterilmiştir. Çizelgeden de görülebileceği gibi, muhafaza süresince deneme dondurma örneklerinin genel kabuledilebilirlik puanları bir miktar düşmüş olmasına rağmen, 45. güne kadar dondurmaların genel kabuledilebilirlik puanlarının ilk gün bulunan puanlarla istatistiki olarak benzer olduğu anlaşılmıştır.

Çizelge 4.92. Muhafaza Süresi Değişkenine Ait Genel Kabuledilebilirlik Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları*

Muhafaza süresi (gün)	n	Genel kabuledilebilirlik puanı
1	8	7,402 a
15	8	7,295 ab
30	8	7,253 ab
45	8	7,155 ab
60	8	7,042 b
75	8	7,128 b
90	8	7,121 b

* Farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

Yapılan duyuşsal analizler sonucunda; probiyotik bakterilerle üretilen dondurmaların genel kabuledilebilirlik puanları bakımından kontrol grubu dondurmalara çok yakın olduğu, şekerlilik bakımından en beğenilen *L. acidophilus* içeren dondurmaların yabancı tat, ağızda bıraktığı his ve genel kabul edilebilirlik puanlarının kontrol grubuna en yakın olduğu, *B. bifidum* içeren dondurmaların ise renk ve görünüş ile tekstür puanlarının kontrol grubuna en yakın olduğu; %5 krema katkılı dondurmaların genel olarak daha yüksek puanlar alması anlamlı bulunmaktadır. Ayrıca muhafaza süresi ilerledikçe genel olarak puanların az da olsa düştüğü dikkat çekmektedir. Bu verilere göre probiyotik dondurmalar *L. acidophilus*'un ve %5 oranında krema ilavesinin daha uygun olabileceği ve dondurmaların taze tüketilmesinin bazı kriterler bakımından daha iyi olacağı söylenebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmayla, özellikle çocuklar ve gençlerin büyük bir zevkle tükettiği, besleyici değeri yüksek bir süt ürünü olan dondurmaya fonksiyonel bir özellik de kazandırmak amacıyla farklı probiyotik kültür ilavesi düşünülmüş ve böylece yararlılığının artırılması hedeflenmiştir. Yine probiyotik dondurma üretilebilirliğinin araştırılması ve ürünün tanıtılması amacıyla bu araştırma planlanmıştır. Bu amaçla 8 farklı dondurma üretilmiş ve muhafazanın belirli günlerinde (1, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90. gün) mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal ve duyusal analizler yapılmıştır. Dondurma miksleri %5 ve 10 krema, %10 süttözu, %18 şeker %0.5 guar sakızı, %0.25 keçi boynuzu sakızı, %0,02 karragen ve %0,04 vanilya içerecek şekilde formüle edilmiştir. Hesaplanan sütün %10'u probiyotik bakteri kültürü hazırlamak amacıyla DSMZ (Almanya) firmasından temin edilen *L. acidophilus* ve *B. bifidum* bakterileriyle tekli ve ikili kültür şeklinde inoküle edilerek 37°C'de 18 saat inkübe edilmiş ve fermente sütler hazırlanmıştır. Miksler 85°C'de 15 dakika pastörize edilmiş, +4°C'de 18 saat olgunlaştırılmıştır. Fermente sütler hazırlanan mikslere katılmış ve özel yapılan mikser ile karıştırılmıştır. Miksler kesikli çalışan, dikey tip Uğur marka dondurma makinasında dondurmalara çevrilmiştir. Araştırma iki tekerrürlü olarak yürütülmüş ve analizler paralelli olarak yapılmıştır.

Araştırmada elde edilen bulgulardan aşağıda maddeler halinde verilen temel sonuçlar çıkarılabilir:

Krema katkısı değişkeninin deneme miks ve dondurmaların kurumadde, yağ ve protein miktarları üzerindeki etkisinin istatistiki olarak önemli ($p<0,01$), bakteri cinsi ve depolama süresi değişkenlerinin ise önemsiz ($P>0,05$) olduğu bulunmuştur. Aynı krema oranına sahip dondurma tipleri arasında kurumadde, yağ ve protein miktarları bakımından istatistiki olarak farklılık bulunmadığı saptanmıştır. Bakteri cinsi değişkeninin deneme miks ve dondurmaların asitlik ve pH değerleri üzerindeki etkisi çok önemli, muhafaza süresi değişkenin bu iki parametre üzerindeki etkisinin ise önemsiz ($p>0,05$) olduğu tespit edilmiştir. Krema katkısı ve bakteri cinsi

değişkenlerinin deneme mikslarının viskozitesi üzerindeki etkisi önemli bulunurken, dondurmaların hacim artışı üzerine sadece krema katkısının etkisinin çok önemli olduğu bulunmuştur.

1. Deneme dondurmaların *L. acidophilus* sayısı üzerine bakteri cinsi ve muhafaza süresi değişkeninin etkisi çok önemli bulunurken, krema katkısının etkisi önemsiz olmuştur. Deneme dondurmaların *B. bifidum* sayısı üzerine muhafaza süresi ve krema katkısının etkisi önemli ($p<0,01$), bakteri cinsi değişkeninin etkisinin ise önemli ($p<0,05$) olduğu tespit edilmiştir.

2. Denemede kullanılan hammaddelerin ve üretilen dondurmaların araştırılan mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal özellikler açısından Türk Standartları ve Türk Gıda Kodeksi Ürün Tebliğlerine uygun olduğu saptanmıştır.

3. En düşük kurumadde oranı (%39,05) %5 krema katkılı *L. acidophilus* + *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde, en yüksek kurumadde oranı (%41,14) %10 krema katkılı *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde bulunmuştur. Muhafaza süresince deneme dondurmaların kurumadde miktarlarında çok hafif değişimler görülmüştür.

4. Deneme dondurmalarında en düşük yağ oranı (%5,91) %5 krema katkılı kontrol, en yüksek yağ oranı (%8,61) %10 krema katkılı *L. acidophilus* + *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde belirlenmiştir.

5. En düşük protein oranı (%5,47) %10 krema katkılı *B. bifidum* içeren, en yüksek protein oranı (%5,56) ise %5 krema katkılı *B. bifidum* içeren dondurma örneklerinde tespit edilmiştir. İncelenen dondurma örneklerinin protein içerikleri, muhafaza süresince hemen hemen sabit kalmıştır.

6. Deneme dondurmalarında en düşük asitlik (%0,33) %5 krema katkılı kontrol, en yüksek asitlik (% 0,54) ise %10 krema katkılı *L. acidophilus* içeren örnekte

belirlenmiştir. Muhafaza süresince deneme dondurma örneklerinin % asitlik değerleri genel olarak artmıştır.

7. Deneme dondurmalarında en düşük pH değeri (5,73) %10 krema katkılı *L. acidophilus* içeren örnekte, en yüksek pH değeri (6,34) ise %10 krema katkılı kontrol örneğinde bulunmuştur. Deneme dondurma örneklerinin pH değerlerinin, muhafaza süresince düşme eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir.

8. En düşük % hacim artışı değeri (30,38) %10 krema katkılı *L. acidophilus* içeren örnekte, en yüksek % hacim artışı değeri (44,55) ise %5 krema katkılı *B. bifidum* içeren dondurma örneğinde bulunmuştur. İncelenen deneme dondurmaların % hacim artışı değerleri krema katkısı tarafından farklı şekillerde etkilenmiştir.

9. Farklı oranda krema ilavesiyle üretilen deneme dondurmalarındaki *L. acidophilus* sayısı 7,239- 6,577 log kob/g arasında değişmiş ve depolama süresince ortalaması 6,907 log kob/g olmuştur. En yüksek sayı depolamanın ilk gününde %5 krema katkılı tekli *L. acidophilus* ile üretilen dondurmada, en düşük sayı ise %5 krema katkılı karışık kültürle üretilen dondurmada 75. günde tespit edilmiştir. Depolama süresince genel olarak azalma eğilimi gösteren *L. acidophilus* sayısı son iki dönemde nispeten dengeye ulaşmıştır.

10. Deneme dondurmalarındaki *L. acidophilus* sayısı üzerine krema katkısının etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Bu bulgu artan yağ oranının bakterinin canlı kalması üzerine etkisinin olmadığını göstermektedir. Bakteri cinsinin, *L. acidophilus* sayısı üzerine etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur. İkili kültür karışımıyla üretilen dondurmalarındaki canlı *L. acidophilus* sayısı tekli kültür (*L. acidophilus*) ile üretilen dondurmalarındaki *L. acidophilus* sayısından daha düşük bulunmuştur.

11. Farklı oranda krema ilavesiyle üretilen deneme dondurmalarındaki *B. bifidum* sayısı 6,97- 6,57 log kob/g arasında değişmiş ve ortalaması 6,738 log kob/g olarak bulunmuştur. En yüksek *B. bifidum* sayısı depolamanın ilk gününde %10 krema katkılı

tekli *B. bifidum* ile üretilen dondurmada, en düşük sayı ise %5 krema katkılı *B. bifidum*+ *L. acidophilus* içeren dondurma örneğinde muhafazanın 90. gününde belirlenmiştir. Muhafaza süresince *B. bifidum* sayısı *L. acidophilus*'a göre nispeten daha az düşmüştür.

12. Deneme dondurmalarındaki *B. bifidum* sayısı üzerine krema katkısının etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Bu bulgu *B. bifidum*' un canlı kalması üzerine artan yağ oranının olumlu etkide bulunduğunu göstermektedir. Bakteri cinsinin, *B. bifidum* sayısı üzerine etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur. İkili kültür karışımıyla üretilen dondurmalarındaki *B. bifidum* sayısı tekli kültürle (*B. bifidum*) üretilen dondurmalarındaki canlı *B. bifidum* sayısından daha düşük olmuştur. Bu bulgulardan, *B. bifidum*'un gelişmesinin *L. acidophilus* tarafından olumsuz etkilendiği sonucu çıkmaktadır.

13. *B. bifidum*' un oksijene karşı hassas olduğu, canlı kalma yeteneklerinin düşük olduğu ve gelişmek için çeşitli bifidojenik faktörlere gereksinimi olduğu literatürlerde belirtilmesine rağmen, araştırmada *B. bifidum* ve *L. acidophilus* yüksek sayılarda gelişmiş ve canlı kalmıştır. Yine karışık kültürlerle üretilen ürünlerdeki *B. bifidum* ve *L. acidophilus* sayısının ayrı olarak belirlenmesinin zor olduğu belirtilmesine rağmen araştırmada kullanılan selektif besiyerleriyle ayırmanın kolaylıkla yapılabildiği bulunmuştur.

14. Deneme miks ve dondurma örneklerinde maya ve küf, *S. aureus*, psikrofilik bakteri (<100 log kob/g), indikatör mikroorganizma olarak kabul edilen koliform grubu bakteri (<10 log kob/g) bulunmamış ve *Salmonella* tespit edilememiştir.

15. Farklı probiyotik bakteri içeren dondurmaların duyuşal olarak belirlenen renk ve görünüş puanları, kontrol grubuna göre daha düşük olmuştur. Fermente sütlerin üretimi sırasında uygulanan yüksek ısı işlem dondurmaların renk ve görünüş puanlarının düşmesine neden olmuştur. Yine %5 krema ilavesinin %10 krema ilavesine göre üründe meydana getirdiği daha beyaz görünüş panelistlerin beğenisini kazanmıştır. Tat ve koku bakımından *B. bifidum* içeren dondurmalar hem kontrol grubu, hem de diğer

dondurma tiplerinden daha çok beğenilmiştir. Tat ve koku bakımından en düşük puanları ikili kültür ihtiva eden dondurmalar almıştır. Yabancı tat ve koku, şekerlilik, ağızda bıraktığı his ve genel kabuledilebilirlik puanları bakımından kontrole en yakın değerler *L. acidophilus* ilaveli dondurmalarda saptanmıştır. Genel olarak %5 kremalı dondurmaların daha çok beğenildiği ortaya çıkmıştır. Ayrıca depolama süresi uzadıkça duyuşal özellikler ile ilgili puanlarda genel olarak çok hafif düşmeler görülmesine rağmen, dondurmaların 3. aydaki puanlar dahil “iyi” olarak nitelendirilen derecelendirmeye girdikleri görülmüştür.

Sonuç olarak %5 krema içeren ve tekli kültür ile üretilen dondurmaların daha çok beğenildiği, probiyotik bakterilerin duyuşal kriterlerde belirgin bir olumsuz etki yapmadığı, 3 aylık depolama süresince dondurmaların probiyotik bir ürün için gerekli canlı bakteri sayısını korudukları bulunmuştur. Tekli kültürlerle üretilen dondurmalarındaki *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayılarının, ikili kültürle üretilen dondurmalarındaki sayıdan fazla olması yine anlamlı bulunmaktadır. Bu sonuçlar probiyotik bakterilerin insana taşınmasında dondurmanın çok uygun bir taşıyıcı araç olduğunu göstermektedir. Üretim, ambalajlama ve muhafaza sırasında hijyenik kurallara uyulmasıyla probiyotik dondurmaların her yaştaki insan için güvenle tüketilebilecek fonksiyonel ve çok yararlı bir süt ürünü olabileceği ortaya konulmuştur.

KAYNAKLAR

- Açkurt, F., Biringen G. ve Löker M., 1999. Sağlıklı beslenmede özel fizyolojik etki gösteren gıdaların yeri. Üretimden Tüketime Diyet Gıdalar Sempozyumu, İstanbul.
- Akalın, A.Ş., Ferdenya S. and Akbulut N., 2004. Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccaride during refrigerated storage. Int. J. Food Sci. Tech., 39, 613-621.
- Alamprese, C., Foschino R., Rossi M., Pompei C. and Savani L., 2002. Survival of *Lactobacillus johnsonii* La1 and influence of its addition in retail- manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations. Int. Dairy J., 12, 201-208.
- Al-Saleh, A.A., Zahran A.S. and Abu-Tarboush H.M., 1998. Growth of bifidobacteria: environmental conditions and adherence to epithelial cells. Milchwissenschaft, 53 (4), 187- 190.
- Anonim, 1975. Krema Standardı, TS-1864. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, 2000a. Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği No: 2000/6.
- Anonim, 2000b. Merck Microbiology Manual, 407 s Darmstadt.
- Anonim, 2002. Fluka Microbiology Manual. Fluka GmbH, 255 s, Fluka.
- Anonim, 2003. Türk Gıda Kodeksi Krema ve Kaymak Tebliği No: 2003/34.
- Anonim, 2004. Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliği No: 2004/45.
- Anonim, 2005. Türk Gıda Kodeksi Koyulaştırılmış Süt ve Süttozu Tebliği No: 2005/18.
- Atsan, E., 2004. Değişik Oranlarda Kullanılan Emülgatör ve Stabilizörlerin Dondurmanın Bazı Kalite Kriterleri Üzerine Etkisi. (Doktora Tezi) Atatürk Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Avonts, L., Uytven E.V. and De Vuyst L., 2004. Cell growth and bacteriocin production of probiotic *Lactobacillus* strains in different media. Int. Dairy J., 14 (11), 947-955.
- Bielecka, M., Biedrzycka E. and Majkowska A., 2001. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. Food Res. Int., 35, 125–131.
- Biström, M. and Nordström K., 2002. Identification of key succes factors of functional dairy foods product development. Trends Food Sci. Tech., 13, 372-379.
- Blum, S., Reniero R., Schiffrin E.J., Crittenden R., Mattila- Sandholm T., Ouwehand A.C., Salminen S., vonWright A., Saarela M., Saxelin M., Collins K. and Morelli L., 1999. Adhesion studies for probiotics: need for validation and refinement. Trends Food Sci. Tech., 10, 405–410.

- Bolliger, S., Goff H.D. and Tharp B.W., 2000. Correlation between colloidal properties of ice cream mix and ice cream. *Int. Dairy J.*, 10, 303-309.
- Bomba, A., Nemcovà R., Mudronovà D. and Guba P., 2002. The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends Food Sci. Tech.*, 13, 121-126.
- Bostan, K ve Akın B., 2002. Endüstriyel dondurmaların mikrobiyolojik kalitesi üzerine bir araştırma. *Türk J. Vet. Anim. Sci.*, (26), 623-629.
- Brassart, D. and Schiffrin E.J., 1997. The use of probiotics to reinforce mucosal defence mechanism. *Trends Food Sci. Tech.*, 8, 321-326.
- Charteris, W.P., Kelly P.M., Morelli L. and Collins J.K., 1997. Selective detection, enumeration and identification of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in mixed bacterial populations. *Int. J. Food Microbiol.*, 35, 1-27.
- Chou, L.S. and Weimer B., 1999. Isolation and characterization of acid- and bile-tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.*, 82 (1), 23-31.
- Christiansen, P.C., Edelsten D., Kristiansen J.R. and Nielsen E.W., 1996. Some properties of ice cream containing *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*. *Milchwissenschaft*, 51 (9), 502- 505.
- Chung, S.J., Heymann H. and Grün I.U., 2003. Application of GPA and PLSR in correlating sensory and chemical data sets. *Food Qual. Prefer.*, 14, 485-495.
- Coeuret, V., Gueguen M. and Vernoux J.P., 2004. Numbers and strains of lactobacilli in some probiotic products. *Int. J. Food Microbiol.*, 97, 147-156.
- Commene, D., Hughes R., Shortt C. and Rowland I., 2005. The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics. *Mutation Research*, 591, 276-289.
- Corthier, G., 1997. Antibiotic- Associated Diarrhoea: Treatments by Living Organisms Given by the Oral Route (probiotics). *Probiotics 2, Application and Practical Aspects*, Ed: R. Fuller. Chapman and Hall, England, 40-64.
- Coşkun, F., 2005. Tekirdağ ilinde satılan sade ve çilekli dondurmalarda fekal kontaminasyonun belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fak. Derg.*, 2 (2), 135-142.
- Çakır, İ., Gül Karahan A. ve Çakmakçı, M.L. 2002. Probiyotikler ve etki mekanizmaları. *Gıda Mühendisliği Derg.*, 6 (12), 179-187.
- Çakır, İ., 2005. Fonksiyonel gıdalar ve probiyotikler. 4. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara.
- Dağdemir, E., Özdemir C., Çelik Ş. ve Özdemir S., 2004. Determination of some properties of caramel cocoa and coffee flavoured ice cream. *International Dairy Symposium*, Isparta.
- Das, U.N., 2002. Essential fatty acids as possible enhancers of the beneficial actions of probiotics. *Nutrition*, 18, 786- 789.

- Dave, R.I. and Shah N. P., 1998. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *J. Dairy Sci.*, 81 (11), 2804–2816.
- Davidson, R.H., Duncan S.E., Hackney C.R., Eigel W.N. and Boling J.W., 2000. Probiotic culture survival and implications in fermented frozen yogurt characteristics. *J. Dairy Sci.*, 83 (4), 666-673.
- Demir, M. ve Alpkent Z., 2004. Production of kefir ice cream and the physical, chemical, microbiological and organoleptic properties of produced ice cream. *International Dairy Symposium*, Isparta.
- Demirci, M. ve Şimşek O., 1997. *Süt İşleme Teknolojisi*. Hasad Yayıncılık, 246 s, İstanbul.
- Dunne, C., Murphy L., Flynn S., O'Mahony L., O'Halloran S., Feeney M., Morrissey D., Thornton G., Fitzgerald G., Daly C., Kiely B., Quigley E.M.M., O'Sullivan G., Shanahan F. and Collins K., 1999. Probiotics: from myth to reality. Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 279–292.
- Erkkila, S. and Peteja E., 2000. Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salt for potential probiotic use. *Meat Sci.*, 55, 297-300.
- Erkkila, S., 2001. *Bioprotective and Probiotic Meat Starter Cultures or the Fermentation of Dry Sausages*. University of Helsinki Department of Food Technology, Helsinki.
- Erkmen, O., 2000. Probiyotik bakterilerin önemi. *Gıda Bilimi ve Teknolojisi*, 5 (1), 26-33.
- Famularo, G., Moretti S., Marcellini S. and De Simone C., 1997. Stimulation of immunity by probiotics. *Probiotics 2, Application and Practical Aspects*, Ed: R. Fuller. Chapman and Hall, England, 133-161.
- Fooks, L.J., Fuller R. and Gibson G.R., 1999. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *Int. Dairy J.*, 9, 53-61.
- Fasoli, S., Marzotto M., Rizzotti L., Rossi F., Dellaglio F. and Torriani S., 2003. Bacterial composition of commercial probiotic products as evaluated by PCR-DGGE analysis. *Int. J. Food Microbiol.*, 82, 59-70.
- Fukushima, Y., Kawata Y., Hara H., Terada A. and Mitsuoka T., 1998. Effect of probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children. *Int. J. Food Microbiol.*, 42, 39–44.
- Fuller, R., 1997. Introduction. *Probiotics 2, Application and Practical Aspects*, Ed: R. Fuller. Chapman and Hall, England, 1-9.
- Gibson, G.R., Saavedra J.M., Macfarlane S. and Macfarlane G.T., 1997. Probiotics and Intestinal Infections. *Probiotics 2, Application and Practical Aspects*, Ed: R. Fuller. Chapman and Hall, England, 10-39.

- Godward, G., Sultana K., Kailasapathy K., Peiris P., Arumugaswamy R. and Reynolds N., 2000. The importance of strain selection on the viability and survival of probiotic bacteria in dairy foods. *Milchwissenschaft*, 55 (8), 441-445.
- Goff, H.D., 1997. Instability and partial coalescence in whippable dairy emulsions. *J. Dairy Sci.* 80, 2620-2630.
- Gomes, A.M.P. and Malcata F.X., 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci. Tech.*, 10 (4/5), 139-157.
- Guarner, F. and Schaafsma G.J., 1998. Probiotics. *Int. J. Food Microbiol.*, 39 (3), 237-238.
- Gueimonde, M., Delgado S., Mayo B., Ruas- Madiedo P., Margolles A. and Reyes-Gavilan C.G., 2004. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. *Food Res. Int.*, 37, 839-850.
- Gürsel, A. ve Karacabey A., 1998. Dondurma Teknolojisine İlişkin Hesaplamalar, Reçeteler ve Kalite Kontrol Testleri. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 1498, Yardımcı Ders Kitabı: 452, 172 s, Ankara.
- Gürsoy, O. ve Kayardı S., 1999. Diyet acidophilus bifidus yoğurdu ve diyet yoğurdun kalite niteliklerinin incelenmesi. *Pamukkale Üniv. Mühendislik Bilimleri Derg.*, 5 (2-3), 1109-1114.
- Güven, M. ve Karaca O.B., 2002. The effects of varying sugar content and fruit concentration on the physical properties of vanilla and fruit ice-cream-type frozen yogurts. *Int. J. Dairy Tech.*, 55 (1), 27-31.
- Güven, M., Karaca O.B. and Kaçar A., 2003. The effects of the combined use of stabilizers containing locust bean gum and of the storage time on Kahramanmaraş-type ice creams. *Int. J. Dairy Tech.*, 56 (4), 223-228.
- Hagen, M. and Narvhus, A., 1999. Production of ice cream containing probiotic bacteria. *Milchwissenschaft*, 54 (4), 265-268.
- Halkman, A.K. ve Akçelik M., 2000. Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi 1 Temel İlkeler. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Sim Matbaacılık Ltd. Şti., 522 s., Ankara.
- Harrigan, W.F., 1998. *Laboratory Methods in Food Microbiology* 3rd edition. Academic Press, 532 s, London.
- Haynes, I.N. and Playne M.J., 2002. Survival of probiotic cultures in low- fat ice-cream. *Aust. J. Dairy Technol.*, 57, 10-14.
- Heenan, C.N., Adams M.C., Hosken R.W. and Fleet G.H., 2004. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented vegetarian dessert. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 37, 461-466.
- Hekmat, S. and McMahon D.J., 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *J. Dairy Sci.*, 75 (6), 1415- 1422.

- Helland, M.H., Wicklund T. and Narvhus J.A., 2004. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk- and water- based cereal puddings. *Int. Dairy J.*, 12, 579-589.
- Hoerr, R.A. and Bostwick E.F., 2000. Bioactive proteins and probiotic bacteria: modulators of nutritional health. *Nutrition*, 16 (7/8), 711-713.
- Hoesl, C.E. and Altwein J.E., 2005. The probiotic approach: an alternative treatment option in urology. *European Urology*, 47, 288- 296.
- Holzapfel, W.H., Haberer P., Snel J., Schillinger U. and Huis in't Veld J.H.J., 1998. Overview of gut flora and probiotics. *Int. J. Food Microbiol.*, 41, 85-101.
- Holzapfel, W.H. and Schillinger U., 2002. Introduction to pre- and probiotics. *Food Res. Int.*, 35, 109-116.
- Hosono, A., Kitazawa H. and Yamaguchi T., 1997. Antimutagenic and antitumor activities of lactic acid bacteria. *Applications and Practical Aspects, Probiotics 2*, editor Fuller, R. Chapman and Hall, New York, 89-132.
- Irianto, A. and Austin B., 2002. Probiotics in aquaculture. *J. Fish Diseases*, 25, 633-642.
- Isolauri, E., Salminen S. and Ouwehand A.C., 2004. Probiotics. *Best Pract. Res. Cl. Ga.*, 18 (2), 299-313.
- Itsaranuwat, P., Al- Haddad K.S. and Robinson R.K., 2003. The potential therapeutic benefits of consuming 'health-promoting' fermented dairy products: a brief update. *Int. J. Dairy Tech.*, 56 (4), 203-210.
- Kailasapathy, K. and Chin J., 2000. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunol. Cell Biol.*, 78 (1), 80-88.
- Kalantzopoulou, G., 1997. Fermented products with probiotic qualities. *Anaerobe*, 3, 185- 190.
- Kavas, G ve Çelikel N., 2004. İmmun sistemde probiyotik bakterilerin önemi. *Gıda* (6), 98.
- Kılıç, S., 2001. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 542.
- Kim, J.Y., Kim D.B. and Lee H.J., 2006. Regulations on health/functional foods in Korea. *Toxicology*, 221 (1), 112-118.
- Kimoto, H., Ohmomo S., Nomura M., Kobayashi M. and Okamoto T., 2000. In vitro studies on probiotic properties of lactococci. *Milchwissenschaft*, 55 (5), 245-249.
- Klaenhammer, T.R., 1998. Functional activities of *Lactobacillus* probiotics: genetic mandate. *Int. Dairy J.*, 8, 497-505.
- Klaenhammer, T.R. and Kullen M.J., 1999. Selection and design probiotics. *Int. J. Food Microbiol.*, 50, 45-57.

- Klaenhammer, T.R., Altermann E., Arigoni F., Bolotin A., Breidt F., Broadbent J., Cano R., Chaillou S., Deutscher J., Gasson M., Guchte Van de. M., Guzzo J., Hartke A., Hawkins T., Hols P., Hutkins R., Kleerebezem M., Kok J., Kuipers O., Lubbers M., Maugin M., McKay L., Mills D., Nauta A., Overbeek R., Pel H., Pridmore D., Saier M., Sinderen van D., Sorokin A., Steele J., O'Sullivan D., Vos W., Weimer B., Zagorec M. and Siezen R., 2002. Discovering lactic acid bacteria by genomics. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82, 29–58.
- Klein, G., Pack A., Bonaparte C. and Reuter G., 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 41, 103–125.
- Koçan, D. ve Koçak C., 2002. Vanilyalı dondurma üretiminde quest admul mg 4143 emülgatörünün farklı kullanım oranlarının dondurma niteliklerine etkisi. *Gıda*, 27 (5), 369-377.
- Korel, F., Ömeroğlu S., Tan G., 2002. Manisa ilinde satılan dondurmaların mikrobiyolojik kalitesi. *Türkiye 7. Gıda Kongresi*, Ankara.
- Kneifel, W. and Pacher B., 1993. An X-Glu based agar medium for the selective enumeration of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt-related milk products. *Int. Dairy J.*, 3 (3), 277-291.
- Kurt, A., Çakmakçı S. ve Çağlar A., 1996. Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 18, 238 s, Erzurum.
- Kwak, N.S. and Jukes J.J., 2001 a. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. *Food Control*, 12, 99-107.
- Kwak, N.S. and Jukes J.J., 2001 b. Functional foods. Part 2: the impact on current regulatory terminology. *Food Control*, 12, 109-117.
- Lee, Y.J., Yu K.W. and Heo T.R., 2003. Identification and screening for antimicrobial activity against *Clostridium difficile* of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* species isolated from healthy infant faeces. *Int. J. Antimicrob. Ag.*, 21, 340- 346.
- Lourens-Hattingh, A. and Viljoen B.C., 2001. Yoghurt as probiotic carrier food. *Int. Dairy J.*, 11, 1–17.
- Martensson, O., Öste R. and Holts O., 2002. The effect of yoghurt culture on the survival of probiotic bacteria in oat-based, non-dairy products. *Food Res. Int.*, 35, 775-784.
- Martin, R., Langa S., Reviriego C., Jimenez E., Marin M.L., Olivares M., Boza J., Jimenez J., Fernandez L., Xaus J. and Rodriguez J.M., 2004. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. *Trends Food Sci. Tech.*, 15, 121-127.
- Mattila-Sandholm, T., Mättö J. and Saarela, M., 1999 a. Lactic acid bacteria with health claims- interactions and interference with gastrointestinal flora. *Int. Dairy J.*, 9, 25-35.
- Mattila- Sandholm, T., Blum S., Collins J.K., Crittenden R., de Vos W., Dunne C., Fonden R., Grenov G., Isolauri E., Kiely B., Marteau P., Morelli L., Ouwehand A., Reniero R., Saarela M., Salminen S., Saxelin M., Schiffrin E., Shanahan F.,

- Vaughan E. and Von Wright A., 1999 b. Probiotics: towards demonstrating efficacy. Trends Food Sci. Tech., 10, 393-399.
- Mattila- Sandholm, T., Myllarinen P., Critenden R., Mogensen G., Fonden R. and Saarela M., 2002. Technological challenges for future probiotic foods. Int. Dairy J., 12, 173-182.
- McNaught, C.E and McFic J., 2001. Probiotics in clinical practice: a critical review of the evidence. Nutrition Research, 21, 343-353.
- Menrad, K., 2003. Market and marketing of functional food in Europe. J. Food Eng., 56, 181-188.
- Metin, M ve Öztürk G.F., 2002. Süt ve Mamülleri Analiz Yöntemleri. Ege Meslek Yüksekokulu Basımevi, Bornova-İzmir.
- Montesi, A., Garcia-Albiach R., Pozuelo, M.J., Pintado C., Goni I. and Rotger R., 2004. Molecular and microbiological analysis of caecal micrpbiota in rats fed with diets supplemented either with probiotics or probiotics. Int. J. Food Microbiol., 40, 93-104.
- Mukan,M. ve Evliya B., 2002. Adana piyasasında tüketime sunulan sade-kaymaklı dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin tüketici sağlığı açısından değerlendirilmesi. Gıda, 27 (6), 489-496.
- Mullie, C., Odou M.F., Singer E., Romond M.B. and Izard D., 2003. Multiplex PCR using 16S rRNA gene-targeted primers for the identification of bifidobacteria from human origin. FEMS Microbiol. Lett., 222, 129-136.
- Nomoto, K., 2005. Prevention of infections by probiotics. J. Biosci. and Bioeng., 100 (6), 583-592.
- Olejnik, A., Lewandowska M., Obarsa M. and Grajek W., 2005. Tolerance of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains to low pH, bile salts and digestive enzymes. Electronic J. Polish Agricultural Universities, 8 (1), 1-12.
- Oliveria, M.N., Sodini I., Remeuf F. and Corrieu G., 2001. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. Int. Dairy J., 11, 935-942.
- O'Sullivan, D.J., 2001. Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria. Agric. Food Chem., 49 (4), 1751-1760.
- Ouwehand, A.C., Kirjavainen P.V., Grönlund M.M., Isolauri E. and Salminen S.J., 1999. Adhesion of probiotic micro-organisms to intestinal mucus. Int. Dairy J., 9, 623- 630.
- Ouwehand, A.C., Tuomola E.M., Tolkko S. and Salminen S., 2001. Assessment of adhesion properties of novel probiotic strains to human intestinal mucus. Int. J. Food Microbiol., 64, 119-126.
- Ouwehand, A.C., Salminen S. and Isolauri, E., 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. Antonie van Leeuwenhoek, 82, 279-289.

- Oyetayo, V.O. and Oyetayo F.L., 2005. Potential of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune system. *African J. Biotechnology*, 4 (2), 123-127.
- Özdemir, C., Dağdemir E., Çelik Ş. ve Özdemir S., 2002. Diyabet hastaları için alternatif dondurma üretimi üzerine bir araştırma. Türkiye 7. Gıda Kongresi, Ankara.
- Özkaya, D.F. ve Kuleaşan H., 2000 a. Maya ve Küf. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Sim Matbaacılık Ltd. Şti., 522 s., Ankara.
- Özkaya, D.F., 2000 b. *Salmonella*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Sim Matbaacılık Ltd. Şti., 522 s., Ankara.
- Penner, R., Fedorak R.N. and Madsen K.L., 2005. Probiotics and nutraceuticals: non-medicinal treatments of gastrointestinal diseases. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5 (6), 596-603.
- Pichhardt, K., 2004. Gıda Mikrobiyolojisi. Gıda Endüstrisi İçin Temel Esaslar ve Uygulamalar. Çevirenler (Sekin, Y. ve Karagözlü N.). Literatür Yayınları:115, 358 s, İstanbul.
- Picot, A. and Lacroix C., 2004. Encapsulation of *bifidobacteria* in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Int. Dairy J.*, 14, 505-515.
- Puupponen-Pimiä, R., Aura A.M., Oksman- Caldentey K.M., Myllärinen P., Saarela M., Mattila- Sandholm T. and Poutanen K., 2002. Development of functional ingredients for gut health. *Trends Food Sci. Tech.*, 13, 3-11.
- Rada, V. and Koc J., 2000. The use of mupirocin for selective enumeration of bifidobacteria in fermented milk products. *Milchwissenschaft*, 55 (2), 65–67.
- Rikkinen, M., Westermarck E., Salminen S. and Ouwehand A.C., 2003. Absence of host specificity for in vitro adhesion of probiotic lactic acid bacteria to intestinal mucus. *Veterinary Microbiology*, 97, 55-61.
- Rinne, M.M., Gueimonde M., Kalliomäki M., Hoppu U., Salminen S.J. and Isolauri E., 2004. Similar bifidogenic effect of prebiotic- supplemented partially hydrolysed infant formula and breastfeeding on infant gut microbiota. *FEMS Immunol. Med. Mic.*, 43, 59-65.
- Roberfroid, M.B., 1999. What is beneficial for health? the concept of functional food. *Food Chem. Toxicol.*, 37 1039-1041.
- Roberfroid, M.B., 2000. Prebiotics and probiotics: Are they functional foods? *Am. J. Clin. Nutr.*, 71 (6),1682–1687.
- Roberfroid, M.B., 2002. Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver Disease*, 34 (2), 105-110.
- Rogelj, I., Bogovic B.M., Majhenic A.C. and Stjkovic A., 2002. The survival and persistence of *Lactobacillus acidophilus* LF221 in different ecosystems. *Int. J. Food Microbiol.*, 76, 83-91.
- Roland, A.M., Phillips L.G. and Boor K.J., 1999. Effects of fat content on the sensory properties, melting, color and hardness of ice cream. *J. Dairy Sci.*, 82 (1), 32-38.

- Roy, D., 2001. Media for the isolation and enumeration of bifidobacteria in dairy products. *Int. J. Food Microbiol.*, 69 (3), 167–182.
- Rönkä, E., Malinen E., Saarela M., Rinta- Koski M., Aarnikunnas J. and Palva A., 2003. Probiotic and milk technological properties of *Lactobacillus brevis*. *Int. J. Food Microbiol.*, 83 (1), 63–74.
- Saarela, M., Lähteenmäki L., Crittenden R., Salminen S. and Mattila Sandholm T., 2002. Gut bacteria and health foods- the European perspective *Int. J. Food Microbiol.*, 78, 99–117.
- Saarela, M., Rantala M., Hallamaa K., Nohynek L., Virkajärvi I. and Mättö J., 2004. Stationary-phase acid and heat treatment for improvement of the viability of probiotic lactobacilli and bifidobacteria. *J. Appl. Microbiol.*, 96, 1205-1214.
- Saher, M., Arvola A., Lindeman M. and Lahteenmaki L., 2004. Impressions of functional food consumers. *Appetite*, 42, 70-89.
- Salminen, S., von Wright A., Morelli L., Marteau P., Brassart D., de Vos W.M., Fonden R., Saxelin M., Collins K., Mogensen G., Birkeland S.E. and Mattila-Sandholm T., 1998. Demonstration of safety of probiotics—a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 44 (1/2), 93–106.
- Salminen, S., Ouwehand A., Benno Y. and Lee Y.K., 1999. Probiotics: how should they be defined? *Trends Food Sci. Tech.*, 10 (3), 107–110.
- Sanders, M.E., 1999. Probiotics. *Food Technol.*, 53 (11), 67–77.
- Sanders, M.E. and Huis in't Veld J., 1999. Bringing a probiotic- containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 293–315.
- Sanders, M.E. and Klaenhammer T.R., 2001. The scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. *J. Dairy Sci.*, 83(2), 319–331.
- Schillinger, U., 1999. Isolation and identification of lactobacilli from novel-type probiotic and mild yoghurts and their stability during refrigerated storage. *Int. J. Food Microbiol.*, 47, 79-87.
- Shah, N.P., 2000. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *J. Dairy Sci.*, 83(4), 894–907.
- Shortt, C., 1999. The probiotic century: historical and current perspectives. *Trends Food Sci. Tech.*, 10, 411-417.
- Silvi, S., Verdenelli M.C., Orpianesi C. and Cresci A., 2003. EU project Crownalife: functional foods, gut microflora and healthy ageing. Isolation and identification of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains from faecal samples of elderly subjects for a possible probiotic use in functional foods. *J. Food Eng.*, 56, 195-200.
- Sodini, I., Lucas A., Oliveira M.N., Remeuf F. and Corrieu G., 2002. Effect of milk base starter culture on acidification, texture, and probiotic cell counts in fermented milk processing. *J. Dairy Sci.*, 85 (10), 2479–2788.

- Stanton, C., Gardiner G., Meehan H., Collins K., Fitzgerald G., Lynch P.B. and Ross R.P., 2001. Market potential for probiotics. *Am. J. Clin. Nutr.*, 73 (2 Suppl.), 476–83.
- Stanton, C., Ross R.P., Fitzgerald G.F. and Van Sinderen D., 2005. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 16, 198-203.
- Sui, J., Leighton S., Busta F. and Brady L., 2002. 16 S ribosomal DNA analysis of the fecal lactobacilli composition of human subjects consuming a probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* NCFM®. *J. Appl. Microbiol.*, 93, 907- 912.
- Sullivan, A. and Nord C.E., 2002. The place of probiotics in human intestinal infections. *Int. J. Antimicrob. Ag.*, 20, 313-319.
- Suškovci J., Kos B., Matošić S. and Besendorfer V., 2000. The effect of bile salts on survival and morphology of a potential probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M 92. *World J. Microb. Biot.*, 16, 673-678.
- Şimşek, O., Tuncay I., Bilgin B., 2006. Endüstriyel dondurma üretiminde farklı stabilizatör kullanımının dondurma kalitesine etkisi. *Tekirdağ Ziraat Fak. Derg.*, 3 (1), 55-63.
- Talwalkar, A., Kailasapathy K., Peiris P. and Arumugaswamy R., 2001. Application of RBGR- a simple way for screening of oxygen tolerance in probiotic bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 71, 245-248.
- Talwalkar, A. and Kailasapathy K., 2004. Comparison of selective and differential media for the accurate enumeration of strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus casei* complex from commercial yoghurts. *Int. Dairy J.*, 14, 143–149.
- Tekinşen, O.C., 2000. Süt Ürünleri Teknolojisi (3. baskı). Selçuk Üniv. Basımevi, 329 s, Konya.
- Temmerman, R., Pot B., Huys G. and Swings J., 2002. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *Int. J. Food Microbiol.*, 81, 1-10.
- Tharmaraj, N. and Shah N.P., 2003. Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Propionibacteria*. *J. Dairy Sci.*, 86 (7), 2288–2296.
- Toit, M., Franz C.M.A.P., Dicks L.M.T., Schillinger U., Haberer P., Warlies B., Ahrens F. and Holzapfel W.H., 1998. Characterisation and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary miniping feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces moisture content. *Int. J. Food Microbiol.*, 40, 93-104.
- Toklu, G.Ş. ve yaygın H., 2000. Antalya piyasasında satılan dondurmaların hijyenik kalitesi. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri. 6. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı. Ed: M. Demirci. Rebel yayıncılık, Tekirdağ, 532-539.

- Tuomola, E.M., Ouwehand A.C. and Salminen S., 2000. Chemical physical and enzymatic pre-treatments of probiotic lactobacilli alter their adhesion to human intestinal mucus glycoproteins. *Int. J. Food Microbiol.*, 60, 75-81.
- Tuomola, E., Crittenden R., Playne M., Isolauri E. and Salminen S., 2001. Quality assurance criteria for probiotic bacteria. *American J. Clin. Nutr.*, 73 (Suppl.), 393-398.
- Turgut, T ve Çakmakçı S., 2003. Probiyotik bakterilerin dondurma üretiminde kullanımı. *Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu*, İzmir.
- Työppönen, S., Petaja E. and Mattila- Sandholm T., 2003. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. *Int. J. Food Microbiol.*, 83 (3), 233-244.
- Urala, N. and Lahteenmaki L., 2005. Consumer's changing attitudes toward functional foods. *Food Qual. Prefen.*, (in press).
- Vaughan, E.E., de Vries M.C., Zoetendal E.G., Ben- Amor K., Akkerman A.D.L. and De Vos W.M., 2002. The Intestinal LABs *Antonie van Leeuwenhoek*, 82, 341-352.
- Vinderola, C.G., Bailo N. and Reinheimer J.A., 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. *Food Res. Int.*, 33, 97-102.
- Vinderola, C.G. and Reinheimer J.A. 2003. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative "in vitro" study of probiotic characteristic and biological barrier resistance. *Food Res. Int.*, 35 (2), 117-124.
- Wang, R.F., Beggs M.L., Robertson L.H. and Cerniglia C.E., 2002 a. Design and evaluation of oligonucleotide-microarray method for the detection of human intestinal bacteria in fecal samples. *FEMS Microbiol. Lett.*, 213, 175-182.
- Wang, R.F., Kim S.J., Robertson L.H. and Cerniglia C.E., 2002 b. Development of a membrane- array method for the detection of human intestinal bacteria in fecal samples. *Mol. Cell. Probe.*, 16, 341-350.
- Wright, A.T., Vilpponen-Salmela M.P.L., Collins K., Kiely B., Shanahan F. and Dunne C., 2002. The survival and colonic adhesion of *Bifidobacterium infantis* in patient with ulcerative colitis. *Int. Dairy J.*, 12, 82-3), 197-200.
- Yasui, H., Shida K., Matsuzaki T. and Yokokura T., 1999. Immunomodulatory function of lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 383-389.
- Yeung, P.S.M., Sanders M.E. and Kitts C.L., 2002. Species- species identification of commercial probiotic strains. *J. Dairy Sci.*, 85 (5), 1039-1051.
- Yıldız, N. ve Bircan H., 1991, *Uygulamalı İstatistik (Genişletilmiş II. Baskı)*, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 305, Erzurum.
- Yılsay, T. Ö. ve Kurdal, E. 2000. Probiyotik süt ürünlerinin beslenme ve sağlık üzerine etkisi. *Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri*, 6. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı. Tekirdağ, 279-286.

- Zavaglia, A.G., Kociubinski G., Perez P. and Antoni G., 1998. Isolation and characterization of *Bifidobacterium* strains for probiotic formulation. J. Food Protect., 61 (7), 865- 873.
- Zavaglia, A.G., Kociubinski G., Perez P., Disalvo E. and Antoni G., 2002. Effect of bile on the lipid composition and surface properties of bifidobacteria. J. App. Microbiol., 93, 794-799.
- Zhou, J.S., Gopal P.K. and Gill H.S., 2001. Potential probiotic lactic acid bacteria *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019) do not degrade gastric mucin in vitro. Int. J. Food Microbiol., 63, 81–90.
- Zubillaga, M., Weill R., Postaire E., Goldman C., Caro R. and Boccio J., 2001. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. Nutr. Res., 21, 569-579.