

Araştırma Makalesi
(Research Article)

Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.,2020, Özel Sayı: 39-50
DOI: [10.20289/zfdergi.775279](https://doi.org/10.20289/zfdergi.775279)

Cansu AKDAN^{1a*}

Özer KINIK^{1b}

Filiz İÇİER^{1c}

¹Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt
Teknolojisi Bölümü, Bornova, İzmir

^{1a}ORCID: 0000-0002-8200-2338

^{1b}ORCID: 0000-0002-5811-9851

^{1c}ORCID: 0000-0002-9555-3390

*sorumlu yazar: cansuakdan28@gmail.com

Anahtar Sözcükler:

Antioksidan aktivite, fenolik aktivite,
proteinlerin hidroliz derecesi

Keywords:

Antioxidant activity, phenolic activity,
degree of hydrolysis of proteins.

Manda Sütü ve Diğer Süt Karışımlarıyla Üretilen Kefirlerin Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi

Determination of Some Properties of Kefir Produced with Buffalo Milk and Other Milk Mixtures

Alınış (Received): 28.07.2020

Kabul Tarihi (Accepted): 18.12.2020

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada, fermente bir süt ürünü olan kefirin manda sütü ile diğer ruminant süt çeşitlerinin karışımlarından (manda-inek, manda-koyun, manda-keçi; %70-%30 ve manda-inek-koyun-keçi; %70-%10-%10-%10 sütlerinin karışımı) üretilen kefirlerin bazı biyokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmada hammadde olarak kullanılan manda sütü ve koyun sütü özel bir süt işletmesinden, inek ve keçi sütleri devlet işletmesinden temin edilmiştir. Uygun şartlarda üretimi tamamlanan kefirlerin 200 ml'lik plastik şişelere dolumu yapılmış ve ürünler 28 gün süre ile +4°C'de soğuk hava deposunda depolanmıştır. Deneme iki tekerrür ve üç paralelli gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Bu çalışmada yüksek kuru madde ve yağ içeriğine sahip manda sütünün tek başına kullanıldığında karşılaşılabilen lezzet ve aroma yoğunluğu nedeni ile diğer ruminant sütleri ile belli oranlardaki karışımlarının kefir üretiminde kullanım olanakları incelenmiştir. Çalışmada üretilen kefirlerin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri kullanılan süt karışımlarından önemli düzeyde etkilenmiştir.

Sonuç: Çalışma sonuçlarına göre üretilen kefirlerin raf ömrünün 28 gün yerine 14 veya 21 gün olması yüksek kuru madde ve yağ içerikli süt kullanılarak üretilen kefirlerde hem biyokimyasal olarak hem de duysal olarak daha verimli sonuçlar alınacağını göstermiştir.

ABSTRACT

The present study was aimed to determine the effect of buffalo and other ruminant milk mixtures (buffalo-cow; buffalo-sheep; buffalo-goat %70-%30; buffalo-cow-sheep-goat milk %70-%10-%10-%10 blends) on the production of kefir, some biochemical properties and microbiological counts of kefir samples.

The scope of the study determination of dry matter, fat, protein, lactose, ash and acidity, *Lactobacillus* spp. count, *Lactococcus* spp. count and yeast count, determining acidity index, determining phenolic, antioxidant and proteolytic activities analyzes were carried out. According to the analysis results for the determination of the main components carried out in the study, it was determined that all kefir samples have high dry matter, fat, lactose, ash and protein content. Its *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp. and yeast counts were found to be similar to all kefir samples. Although the kefir samples didn't have great deal of total phenolic compounds, the antioxidant activity of kefir samples were higher than cow milk kefir's. Also protein hydrolysis degree (OPA value) and acidity value (FFA amount) were regularly increased during storage. As a result of this study, kefir, which has an important place in fermented dairy products and also attracts attention with its probiotic properties, kefir has been associated with buffalo milk and buffalo-other ruminant milk mixtures using possibilities in the kefir production and product variation.

GİRİŞ

İnsan beslenmesinde önemli yere sahip olan fermente süt ürünleri temel gıda maddesi olarak kabul edilmektedir. Son yıllarda fermente süt ürünlerinin insan sağlığına olan faydasına dikkat çekilmiş ve tüketiminde büyük artışlar meydana gelmiştir ([Demirgöl ve Sağdıç, 2018](#)).

Kefir, sütün kefir daneleriyle veya kefir danelerinden izole edilen mikroorganizmaların starter kültür olarak kullanılmasıyla üretilen bir üründür. Fermente bir süt içeceği olan kefir, sütün yapısında bulunan temel besin öğelerinin büyük çoğunluğunu içerir ([Yetişemiyen, 1995](#)). Kefir fermantasyonunun ana ürünleri; laktik aside ilaveten etanol ve karbondioksittir. İkincil bileşenler ise aroma kompozisyonuna katkı sağlayan, diasetil, asetaldehit, düşük moleküllü serbest yağ asitleri ve aminoasitlerdir ([Esmek ve Güzeler, 2015](#)).

Kefir, ağızda hissedilen ferahlatıcı etkisi, tipik maya tadı ve kendine has aroması ile bilinir. Kefir kelimesi, içildikten sonra 'iyi hissetmek' anlamında olan Türkçe 'keyif' sözcüğünden türetilmiştir ([Lopitz-Otsoa ve ark., 2006](#); [Tamime, 2006](#)). Kefir üretiminde gerçekleşen laktik asit ve alkol fermantasyonlarının sonucunda kefir, sindirimi kolay, ferahlık veren ve iştah açıcı özelliklerinin yanı sıra bazı rahatsızlıklarda iyileşmeyi hızlandırıcı ve biyoyararlılığı yüksek bir üründür ([Hosono ve ark., 1986](#); [Rahmawati ve Suntory, 2015](#)). Canlı mikrobiyotaya sahip olan probiyotik süt ürünleri fonksiyonel gıda olarak değerlendirilebilmektedir. Fonksiyonel gıda olan kefir, vücudun temel fonksiyonlarını ve çeşitli faaliyetlerini sürdürebilmesi için gerekli olan yararlı bakteri ve mayalar yanında sütün temel bileşim öğeleri, vitamin, mineral ve esansiyel aminoasitleri içermektedir ([Anandharaj ve ark., 2014](#)).

Fermantasyon yoluyla açığa çıkan laktik asit ve protein sindirimiyle üretilen biyoaktif peptitler, mevcut antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerin temelini oluşturmaktadır ([Shiby ve Mishra, 2013](#)). Fermente süt ürünleri ve peynir gibi süt mamullerinin üretiminde uygulanan pastörizasyon, sıcaklık ve zaman normları ile kullanılan kültür tipi ve oranı, fermantasyon sıcaklığı gibi faktörlere bağlı olarak sütlerin dolayısıyla ürünlerin antioksidatif özelliklerini önemli ölçüde değiştirmektedir. Bu arada ruminant sütleri arasında manda ve keçi sütlerinin antioksidan ve toplam fenolik aktivitesi daha yüksektir ([Şatır, 2011](#)). Bu açıdan bakıldığında ürünlerin antioksidan aktivitesinin izlenmesi fonksiyonel özelliklerin belirlenmesinde değer taşımaktadır.

Manda, etinden, sütünden, çeki gücünden yararlanılan, ekonomik önemi yüksek bir çiftlik

hayvanıdır. Düşük kaliteli yemle beslendiği durumlarda bile yüksek kalitede süt verebilen, yavru gelişimi çabuk ve kolay olan, iyi kalitede et ve zengin bileşimli süt ve süt ürünleri elde edilebilen bir hayvan olduğu için uzun yıllardır beslenmektedir ([Kınık ve Yerlikaya, 2015](#)). Manda sütü inek sütüyle kıyaslandığında daha yüksek oranda yağ, protein, laktoz, kazein ve kuru madde içermektedir. Manda sütü yüksek kuru madde ve yağ içeriğinden dolayı özellikle yoğurt ve benzeri ürünlere işlenirken inek, koyun, keçi sütü ile belli oranlarda karıştırılarak kullanımı daha kabul edilebilir özelliklere sahip ürün elde edilmesini sağlamaktadır ([Akan ve ark., 2014](#)).

Bu amaçla çalışmada manda sütünün yüksek yağ içeriği ve kuru madde düzeyi nedeniyle daha yumuşak içimli kefir üretimini sağlayabilmek amacıyla inek, koyun ve keçi sütleriyle belirli oranlarda karıştırılarak kefir üretimi ve elde edilen kefirlerin bazı kimyasal, mikrobiyolojik özellikleriyle, asitlik indeksi, antioksidan aktivitesi (DPPH aktivitesi), proteinlerin hidroliz derecesi, toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Manda, inek, koyun ve keçi sütü

Çalışmada hammadde olarak kullanılan manda sütü (Ali Osman Durman Manda Çiftliği-Manisa) ve koyun sütü (Şemsi Egi Gıda Ürünleri, İmalat San. ve Ltd. Şti.-İzmir) özel şirketlerden, inek ve keçi sütleri (Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Menemen Araştırma ve Uygulama Çiftliği ve Ege Üniversitesi Zootekni Bölümü Keçi Ağılı) iç kaynaklardan temin edilmiştir. Kefir üretimi Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Pilot Tesisi'nde gerçekleştirilmiştir.

Kefir starter kültürü

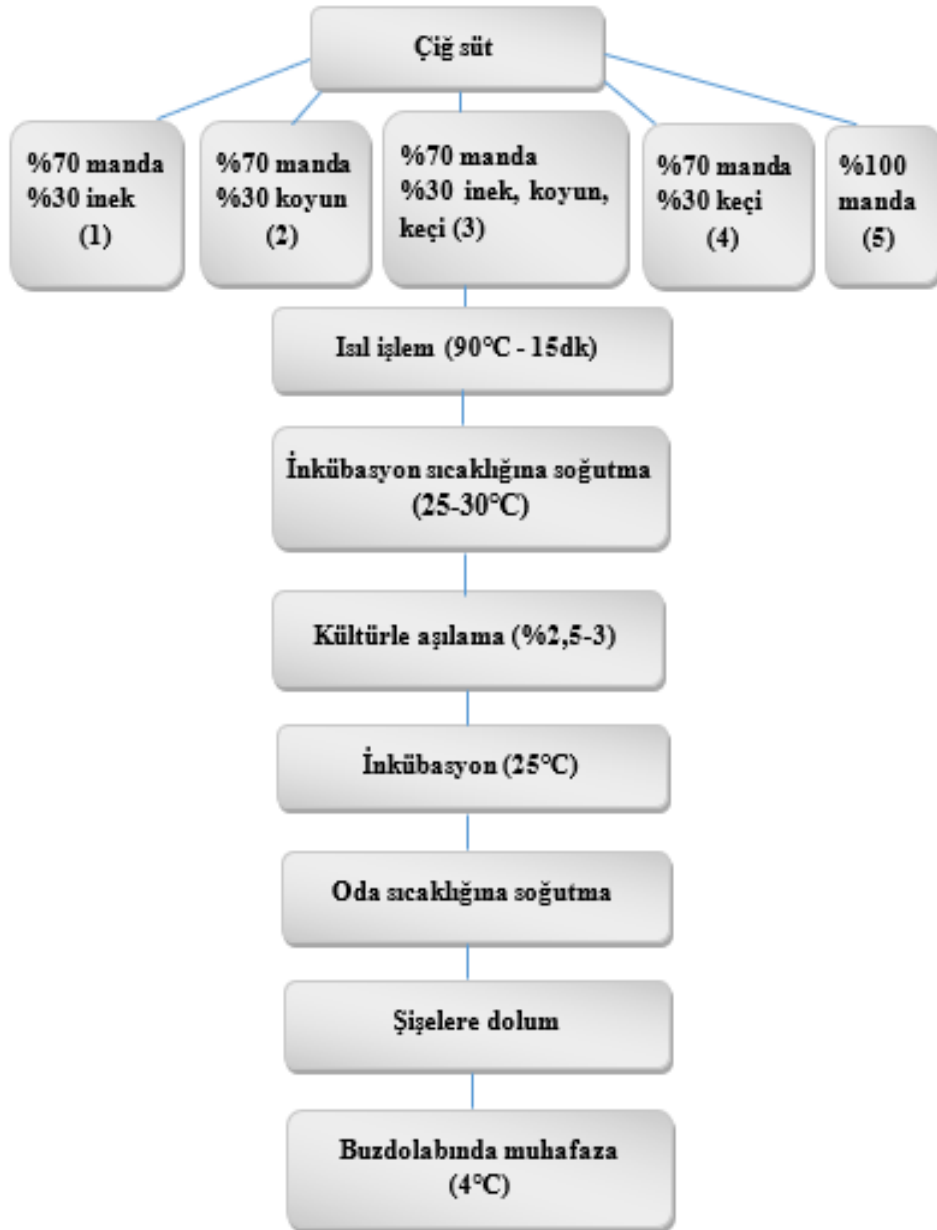
Kefir üretimi Referans Gıda San. ve Dış Tic. Ltd. Şti.'den (İzmir) temin edilen İtalya menşelli Micromilk firmasına ait Micromilk KFA 1 (% 30 *Streptococcus thermophilus*, % 20 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* % 20 *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, % 10 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis biovar diacetylactis*, % 10 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, % 10 *Debarymyces hansenii*) kültür karışımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kefir üretimi

Çiğ manda, inek, koyun, keçi sütü 90°C'de 15 dakika süre ile çift cidarlı paslanmaz çelik pastörizatörde ısıtılma tabii tutulmuştur. Ardından 25-30°C'ye kadar soğutulan % 100 manda (1), % 70 manda - % 30 inek

(2), % 70 manda - % 30 koyun (3), %70 manda - % 30 keçi (4) ve % 70 manda - % 10 inek, % 10 koyun, % 10 keçi (5) sütlerine ayrı ayrı Micromilk KFA 1 kefir kültürü (üretici firma tarafından önerilen miktarda aseptik koşullarda tartılarak UHT süt içerisinde 25°C'de 1/2 saat aktive edildikten sonra) ilave edilmiştir. pH değeri 4.7'ye geldiğinde inkübasyon sonlandırılmıştır. İnkübasyon sonunda ürünler 30 dakika oda koşullarında bekletildikten sonra 200 ml'lik

plastik şişelere dolun yapılmış ve 28 gün süre ile +4 C'de soğuk hava deposunda depolanmıştır (Şekil 1). Deneme iki tekerrür ve üç paralelli gerçekleştirilmiştir. Kefir örneklerinin soğukta depolanmaları sürecinde (1.,7.,14.,21.,28. günlerde) bazı kimyasal özellikleri yanında asitlik indeksi, toplam fenolik madde miktarı, antioksidan ve proteolitik aktivite yanında mikrobiyal özellikleri (*Lactobacillus* spp. sayımı, *Lactococcus* spp. sayımı ve maya sayımı) belirlenmiştir.



Şekil 1. Manda sütü ve diğer süt karışımlarıyla üretilen kefirlerin üretim akış şeması.
Figure 1. Production flow diagram of kefir produced with buffalo milk and other milk mixtures.

Kimyasal analizler

Kuru madde tayini gravimetrik yöntemle gerçekleştirilmiştir (AOAC, 2012a). Protein miktarı Kjeldahl metoduyla azot miktarının 6.38 katsayısıyla çarpılması yoluyla hesaplanmıştır (AOAC, 2012d). Laktoz tayini hesaplama yöntemiyle belirlenmiştir (Wszolek ve ark 2001). Kuru madde miktarından yağ, protein ve kül miktarları çıkartılarak laktoz miktarına ulaşılmıştır. Yağ miktarı Gerber yöntemi ile belirlenmiştir (AOAC, 2012c). Kefir örneklerinde kül miktarı, kül fırınında yakma sonucunda gravimetrik yöntemle belirlenmiştir. Sonuçlar % (w/v) olarak verilmiştir (AOAC, 1997). Kefir örneklerinin pH değeri, (WTW pH 315, Weilheim, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Kefir örneklerinde titre edilebilir asitlik Soxhlet-Henkel yöntemiyle yapılmış ve sonuçlar laktik asit cinsinden ifade edilmiştir (AOAC, 2012b).

Asitlik indeksi

Yüksek yağ içerikli sütler kullanılmasından kaynaklanabilecek oksidasyonu takip edebilmek adına yapılan analizde 1 ml kefire 25 ml eter-etanol (2:1) karışımı ilave edilmiştir ve % 2'lik fenolftalein damlatılarak 0.1 N KOH ile titrasyon gerçekleştirilerek sarfiyat mgKOH/100g olarak kaydedilmiştir (Oliveira ve ark., 2018).

OPA (O-Phthaldialdehide)

Reaksiyonun temeli, ışığı 340 nm'de absorbe edecek bir bileşik oluşturmak için birincil amino grupları ve bir SH-bileşiği (ditiyotretol, DTT/Thermo Scientific, ABD) ile OPA'nın reaksiyonuna dayanır (El ve ark., 2015). OPA analizi için hazırlanan örneklerden 0.1 ml küvetlere alınarak üzerine 2 ml hazırlanan OPA çözeltisi ilave edildikten sonra 340 nm'de okuma yapılmıştır. Okuma yapılan ürünlerin eğriden elde edilen formülde mg serin/ml cinsinden hidroliz dereceleri belirlenmiştir.

Örnek ekstraktlarının hazırlanması

Kefir örneklerinin her birinden 10 ml alınarak üzerlerine 10 ml metanol ilave edilmiştir. Daha sonra 8602 x g'de, 4°C 30 dakika süre ile santrifüj işlemi gerçekleştirilmiş ve örnekler Whatman No:41 filtre kağıdından (Sigma Aldrich, ABD) süzölmüştür. Elde edilen filtratlar toplam fenolik bileşen ve antioksidan aktivite (DPPH yöntemi) analizlerinde kullanılmıştır.

Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde tayininde Folin-Ciocalteu yöntemi (Kocadağ Kocazorbaz, et al., 2017) modifiye edilerek uygulanmıştır. Her örnek süzütüsünden 20 µl alınarak üzerine 10 kat seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifinden (Merck, Almanya) 100 µl ilave edilmiştir. 5 dk. boyunca oda sıcaklığında inkübasyonda bırakıldıktan

sonra 80 µl (%7,5) NaCO₃ üzerine ilave edilerek mikroplaka içerisinde karanlıkta oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Daha sonra 760 nm'de 96-well microplate reader (Thermo Scientific, ABD) absorbans ölçümleri yapılmıştır. Standart madde olarak gallik asit kullanılmış olup, sonuçlar gallik asit eşdeğeri (mg/ml) şeklinde ifade edilmiştir.

Toplam antioksidan aktivite (DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) radikali süpürücü aktivitesi)

Fermente süt içeceklerinin antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. 100 µl örnek ekstraktlarına 100 µl 60 mM DPPH (metanolde) ilave edilmiştir. Karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyon sonrası 517 nm'de 96-well microplate reader (Thermo Scientific, ABD) absorbans ölçümleri alınmıştır (Pavithra and Vadivukkarasi, 2015). Kontrol örneğinde örnek yerine metanol konulmuştur.

$$\%RSA = [(A_{\text{kontrol}} - A) / A_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (1)$$

2.10 Mikrobiyolojik analizler

Lactobacillus spp. sayımında pH değeri 6.2±0.1 olan MRS agar (Merck, Almanya) kullanılarak anaerobik ortamda 48 saat 37°C'de inkübasyonun ardından gerçekleştirilmiştir (Elgarhy ve ark., 2018). *Lactococcus* spp.'lerinin sayımı M17 agar (Merck, Almanya) ortamında 48 saat boyunca 32°C'de aerobik ortamda inkübe edilerek sayımı yapılmıştır (Elgarhy ve ark., 2018). Maya ve küf sayımında YGCA (Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar/Merck, Almanya) besiyeri kullanılmıştır. Yagma plak yöntemiyle yapılan sayım aerobik ortamda 25°C'de gerçekleştirilmiştir. Inkübasyonun 3. gününde maya sayımı yapılmıştır ancak 5. gününde rastlanmadığı için küf sayımı yapılamamıştır (FDA-BAM, 2001).

İstatistiksel Analizler

Gerçekleştirilen analizler ve üretilen her bir kefir arasındaki farklar SPSS versiyon 23 paket programıyla değerlendirilmiştir. Testler p < 0.05 anlamlılık düzeyinde gerçekleştirilerek örnekler gruplandırılmıştır. Analizlerin değerlendirmesi One-way ANOVA (IBM SPSS Statistics, SPSS inc., Chicago, Illinois) parametrik istatistik test tekniğine göre Post Hoc testlerden Duncan test sonuçlarına göre yorumlanmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Kefirlerin genel bileşim özellikleri

Çalışmada manda, inek, koyun ve keçi sütlerinin belli orandaki karışımları hazırlanarak üretilen kefirlerin genel bileşim özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir. Üretilen

kefir örneklerinin kuru madde miktarları depolamanın 1. gününde %14.42±0.02 ile 17.65±0.04 arasında değişmiştir. Kuru madde açısından manda-inek sütü (2) kefiri ve manda-keçi sütü (4) kefiri dışındaki örnekler arasında anlamlı bir benzerlik tespit edilememiştir ($p < 0.05$). Diğer bir deyişle kuru madde oranları yüksek manda, manda-koyun ve manda-inek-koyun-keçi sütü karışımlarından hazırlanan kefirlerin kuru madde düzeylerinin belirgin düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Gül ve ark. (2015) tarafından manda sütüyle kefir üretimi yapılan bir çalışmada kefirlerin kuru maddelerinin % 11.41 ile % 11.67 arasında, inek ve manda sütlerinden üretilen kefirlerde kuru madde oranını % 12.56-12.70; Khan ve ark. (2017) manda ve inek sütünden kefir üretimi yaptıkları çalışmada kuru madde düzeyini %16.05-12.60; Sokolinska ve ark. (2008) koyun sütünden üretilen kefirlerde kuru madde oranını %17.12 olarak saptamışlardır.

Çizelge 1. Kefirlerin temel bileşim öğeleri.
Table 1. Basic composition elements of kefir.

Özellikler	Kefirler				
	% 100 Manda (1)	Manda-İnek (2)	Manda-Koyun (3)	Manda-Keçi (4)	Manda-İnek-Koyun-Keçi (5)
% Kuru madde	16.64±0.02	14.42±0.02	17.65±0.04	14.58±0.04	15.69±0.10
% Yağ	6.75±0.07	5.95±0.07	6.85±0.07	6.05±0.07	6.10±0.14
% Protein	4.30±0.02	4.04±0.02	4.70±0.01	4.05±0.04	4.15±0.04
% Laktoz	4.84±0.16	3.61±0.16	5.20±0.70	3.74±0.16	5.44±0.88
% Kül	0.75±0.01	0.82±0.02	0.90±0.07	0.74±0.04	0.98±0.04
% Laktik asit	0.95±0.05	0.95±0.05	1.04±0.02	0.94±0.06	0.91±0.04
pH değeri	4.71±0.01	4.69±0.01	4.60±0.01	4.62±0.01	4.60±0.02

Çalışmada kefir örneklerinin protein oranlarının % 4.04±0.022 ile 4.70±0.01 arasında değiştiği ve örneklerin protein oranlarının, manda ve koyun sütüyle (3) üretilen kefir hariç, birbirine benzer olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Kefirlerin bileşimlerinin değişimini dikkate alan çalışmalardan birinde inek sütü ile üretilen kefirde protein oranı % 3.17 olarak saptanmışken (Wszolek ve ark. (2001), Dinç (2008) çalışmasında inek sütünden üretilen kefirde protein oranını % 3.71 olarak belirtmektedir. Sokolinska ve ark (2008) koyun sütünden ürettikleri kefirde protein oranını % 5.87; Khan ve ark (2017) manda ve inek sütünden üretilen kefirlerde protein oranını % 3.86-3.22; Tomar ve ark (2020) ise manda ve inek kefirlerinde protein oranını % 4.53-3.38 olarak saptamışlardır. Yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar dikkate alındığında çalışmamızda belirlenen değerlere benzerlik gösterse de gözlenen farklılıklar süt çeşitleri ve üretimde kullanılan sütlerin karışım oranlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Örneklerin laktoz oranları süt karışımlarındaki süt çeşidinin bileşim zenginliğine göre farklılık göstermekle birlikte % 100 manda sütüyle (1) üretilen kefirler % 4.84±0.16 laktoz oranına sahipken, manda ve inek (2) ile manda ve keçi (4) sütü kullanılarak üretilen kefirlerin laktoz oranı birbirine yakın bulunmuş (%3.61±0.16; 3.74±0.16) diğer kefir örneklerinde ise özellikle koyun sütünün bileşim zenginliğine bağlı olarak

manda-koyun ve manda-inek-koyun-keçi sütlerinden hazırlanan kefirlerin % 5.20±0.70 ve % 5.44±0.88 gibi daha yüksek oranlarda laktoz içerdiği belirlenmiştir ($p < 0.05$). Kefir üretiminde UHT sütün kullanıldığı bir çalışmada % 3 yağlı UHT sütün laktoz miktarı % 4.75 olarak belirlenmişken; 24 saatlik fermantasyon süresi sonunda % 3.92'ye düştüğü (Merin ve Rosenthal, 1986) saptanmıştır. Laktoz değeri koyun sütünden üretilen kefirlerde % 4.12; manda ve inek sütünden üretilen kefirlerde ise % 4.85-4.56 olarak belirtilmektedir (Sokolinska ve ark 2008, Tomar ve ark 2020).

Kefirlerin yağ oranları büyük bir değişim göstermemekle birlikte yüksek yağ oranına sahip manda ve koyun sütleriyle üretilen (1 ve 3) kefirlerin yağ oranlarının yakın olduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde manda-inek (2), manda-keçi (4) ve tüm sütlerin karışımıyla üretilen (5) kefirlerin yağ oranları birbirine yakın ve diğer iki örneğe göre daha düşüktür ($p < 0.05$). Dinç (2008) çalışmasında geleneksel kefirde % 2.83 gibi oldukça düşük bir yağ oranı tespit etmişken koyun sütünden üretilen kefirde yağ oranı % 6.26; manda ve inek sütünden üretilen kefirlerde ise % 3.07-3.04 olarak bulunmuştur.

Kefirlerin kül miktarları incelendiğinde, manda sütü (1) kefiri ve manda-keçi sütü (4) kefiri benzer özelliklere sahipken, manda-koyun sütü (3) kefiri ve manda-inek-koyun-keçi sütü (5) kefirinde birbirine

benzer kül miktarları belirlenmiştir. Manda-inek sütü kefirinin (2) ise diğer örneklerle istatistiksel açıdan benzerliği bulunmamaktadır ($p < 0.05$). Genel bağlamda manda koyun sütleri bileşimce çok zengin sütlerdir. Çalışmamızda da üretilen kefir örneklerinin kül miktarları özellikle koyun sütünün kullanıldığı örneklerde belirgin şekilde daha yüksek çıkmıştır. Buna karşın doğal olarak kuru madde düzeyleri daha düşük inek ve keçi sütlerinin kullanıldığı kefir örneklerinde de anılan sütlerin kuru maddeleri benzer dolayısıyla da kül miktarları da benzer düzeyde bulunmaktadır. Buna bağlı olarak inek ve keçi sütlerinin kullanıldığı karışımlarda kül düzeyleri daha düşük çıkmıştır. Ergin ve ark. (2017) homojenize süttten üretilen kefirde gerçekleştirdikleri çalışmada kül miktarı % 0.67; Sokolinska ve ark (2008) ise koyun sütü kefirinde % 0.87 olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda üretilen kefir örneklerinde saptanmış olan değerler ile literatürde rapor edilen değerler arasındaki farklılıklar, kullanılan süt çeşidi, süt çeşitlerinin karışım oranları, üretim yöntemi ve kullanılan starter tipindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

% 100 manda sütüyle (1) üretilen kefirle, manda ve inek sütüyle (2) üretilen kefirlerin pH değerleri sırasıyla 4.71 ve 4.69 düzeyindeyken manda-koyun (3), manda-keçi (4) ve manda-inek-koyun-keçi (5) sütü karışımları ile üretilen kefirlerde pH değeri 4.60-4.62 değerleri arasında bulunmuştur. Yani manda (1) ve manda-inek sütü (2) karışımından hazırlanan kefir örnekleri hariç, diğer örnekler de kendi aralarında pH değerleri bakımından birbirlerine benzerlik göstermektedir ($p < 0.05$). Gül ve ark., (2015) manda sütüyle kefir üretimi gerçekleştirdikleri bir çalışmalarında pH değerlerinin değişimi çalışmamızdan daha düşük değerde pH 4.26-4.64 olarak belirlemişlerdir.

% Laktik asit cinsinden titrasyon asitliği oranları genel olarak değerlendirildiğinde % 100 manda sütüyle üretilen (1) kefir ile manda-inek sütü kefirinin (2) asitliği % 0.95 ± 0.05 LA olarak bulunmuştur. Diğer örneklerin ise asitliği % 0.91 ± 0.04 - 1.04 ± 0.02 LA arasında değişmiştir ($p < 0.05$). Dinç (2008) çalışmasında geleneksel kefirde laktik asit cinsinden titrasyon asitliğini % 0.78 LA; Sokolinska ve ark (2008) koyun sütü kefirinde asitliği % 1.08 LA; Tomar ve ark (2020) ise manda ve inek sütü kefirlerinde asitliği % 0.70-0.80 LA arasında saptamışlardır. Çalışmamızda asitlik değerlerinde gözlenen yüksek değerler üretimde kullanılan sütlerin bileşim zenginliğine bağlı olarak fermantasyon sırasında laktik asit bakterileri ve mayaların metabolizmaları neticesinde; laktoz ve azotlu bileşiklerin hidrolizasyonu ile oluşan yüksek düzeydeki azotlu maddeler ve organik asitlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Asitlik indeksi

Yüksek yağ oranına sahip manda ve koyun sütleriyle birlikte inek ve keçi sütlerinin kullanıldığı bu çalışmada kefirlerin yüksek yağ içerikleri ve kullanılan kefir kültürünün bileşiminde bulunan mayaların yüksek lipolitik *Lactobacillus* spp.'lerin ise olası lipolitik aktiviteleri nedeniyle depolama süreçlerinde karşılaşılacak potansiyel hidroliz/oksidasyonu belirleyebilmek amacıyla asitlik indeksi değerleri 28 günlük depolama süresince saptanmış ve kefirlerin asitlik indeksi ve depolama süresince değişimleri Çizelge 2'de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde % 100 manda sütüyle üretilen (1) kefirle tüm sütlerin karışımıyla üretilen (5) kefirin asitlik indeksi değerleri anılan örneklerde 1. günde 1.85-1.75 mgKOH/100g ve 2.15-1.75 mgKOH/100g arasında değiştiği belirlenmiştir. Manda ve inek (2) ile manda ve

Çizelge 2. Kefirlerin depolama günlerine göre asitlik indeksi (mgKOH/100g)

Table 2. Acidity index of kefir according to storage days (mgKOH/100g)

Depolama Günleri	% 100 Manda (1)	Manda-İnek (2)	Manda-Koyun (3)	Manda-Keçi (4)	Manda-İnek-Koyun-Keçi (5)
1	1.85±0.07 ^{Aa}	1.60±0.01 ^{Bc}	2.10±0.14 ^{Cd}	2.05±0.07 ^{Cd}	2.15±0.07 ^{Cd}
7	1.75±0.07 ^{Ab}	1.75±0.07 ^{Ab}	1.60±0.14 ^{Bc}	1.55±0.07 ^{Bc}	1.55±0.07 ^{Bc}
14	1.60±0.01 ^{Bc}	1.55±0.07 ^{Bc}	1.40±0.01 ^{De}	1.50±0.01 ^{Bc}	1.65±0.07 ^{Bc}
21	1.65±0.07 ^{Bc}	1.70±0.14 ^{Bbc}	1.45±0.07 ^{De}	1.60±0.01 ^{Bc}	1.60±0.01 ^{Bc}
28	1.75±0.07 ^{Ab}	1.55±0.07 ^{Bc}	1.60±0.01 ^{Bc}	1.70±0.01 ^{Bbc}	1.75±0.07 ^{Ab}

Not: Farklı harfleri taşıyan kefir örnekleri arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

^{a,b,c,d,e}: İlgili kolondaki kefir örneği için asitlik indeksleri arasındaki farklılıkları ifade eder.

^{A,B,C,D}: İlgili satırdaki kefir örnekleri için asitlik indeksleri arasındaki farklılıkları ifade eder.

koyun sütü kullanılarak üretilen (3) kefirlerin 1. günde 1.60mgKOH/100g ve 2.10mgKOH/100g olarak saptanan asitlik indeksi değerlerinin 28. depolama gününde ise benzer değerler gösterdiği saptanmıştır. Manda ve keçi sütüyle üretilen (4) kefirler ise 1. günde manda-koyun sütünden (3) hazırlanan kefiirlere benzerlik gösterirken 28. depolama gününde her iki gruba da yakınlık göstermiştir ($p < 0.05$). Elde edilen sonuçlardan görüldüğü gibi kefirlerin üretiminde kullanılan süt çeşitleri ve süt karışımları asitlik değerini önemli ölçüde etkilemiştir ($p < 0.05$). Fermente süt ürünlerinde serbest yağ asitleri (SYA) miktarını ifade eden asitlik değeri ürünün lezzet ve aromasının oluşumunda etkilidir. Bunlar süt yağından kültür kaynaklı lipolitik aktivite ayrıca laktoz transformasyonu ve aminoasitlerin oksidatif deaminasyonu, transaminasyonu ve dekarboksilasyonu sonucu meydana gelmektedir. Öte yandan depolama süresince asitlik indeksi değerlerinin

özellikle depolama süreçleri boyunca değişken seyir izlemesi ve 28. günde düşme eğilimi göstermesi düşük molekülü serbest yağ asitlerinin ester, alkol gibi bileşenlere dönüştürülmesinden kaynaklanmaktadır. Fermente süt ürünlerinin, süte göre 5-10 kat daha fazla SYA içerdiği bu miktarın koyun, manda gibi yağ oranı yüksek sütlerde 4.3 kat daha fazla olabileceği belirtilmektedir (Sokolinska ve ark 2008). Oliveira ve ark.'nın, (2018) bir çalışmasında asitlik indeksinin (SYA) 0.95-12.56 KOH/g gibi geniş bir aralıkta değiştiği belirlenmiştir.

Antioksidan aktivite

Hazırlanan ekstraktlara DPPH ilave edilerek belirlenen antioksidan aktivite gram başına mg askorbik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Depolama süreci boyunca yapılan antioksidan aktivite tayininin sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. Depolama günlerine göre antioksidan aktivite (mg/g askorbik asit eşdeğeri).

Table 3. Antioxidant activity of kefir according to storage days (mg/g ascorbic acid equivalent).

Depolama Günleri	% 100 Manda (1)	Manda-İnek (2)	Manda-Koyun (3)	Manda-Keçi (4)	Manda-İnek-Koyun-Keçi (5)
1	37.61±0.10 ^{Aa}	57.46±0.05 ^{Bd}	54.22±0.03 ^{Bcd}	47.26±0.10 ^{Cc}	54.72±0.08 ^{Bcd}
7	18.07±0.05 ^{Db}	52.03±0.02 ^{Bc}	52.13±0.03 ^{Bc}	29.37±0.08 ^{Af}	52.54±0.09 ^{Bc}
14	50.20±0.04 ^{Cc}	65.40±0.02 ^{Ee}	47.68±0.03 ^{Cc}	43.67±0.15 ^{Cc}	47.67±0.04 ^{Cc}
21	49.36±0.05 ^{Cc}	52.74±0.02 ^{Bc}	52.74±0.03 ^{Bc}	51.74±0.08 ^{Bc}	57.89±0.14 ^{Bd}
28	53.03±0.16 ^{Bc}	47.97±0.12 ^{Cc}	57.57±0.12 ^{Bd}	45.45±0.13 ^{Cc}	59.09±0.04 ^{Bd}

Not: Farklı harfleri taşıyan kefir örnekleri arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

^{a,b,c,d,e,f}: İlgili kolondaki kefir örneği için antioksidan aktivite oranları arasındaki farklılıkları ifade eder.

^{A,B,C,D,E}: İlgili satırdaki kefir örnekleri için antioksidan aktivite arasındaki farklılıkları ifade eder.

Kefir örnekleri arasında 28. depolama gününde manda ve koyun sütü karışımıyla üretilen (3) kefir ile manda, inek, koyun ve keçi sütü karışımıyla üretilen (5) kefirin antioksidan aktivitesinde artış meydana gelirken, kontrol örneğinin (1) antioksidan aktivitesinde artışın daha belirgin olduğu görülmüştür. Manda ve inek sütü karışımıyla üretilen (2) kefir ile manda ve keçi sütü karışımıyla üretilen (4) kefirlerin antioksidan aktivite değerlerinde depolama sürecinin sonunda azalmalar meydana gelmiştir.

Öte yandan peyniraltı suyu proteinleri ve depolama sırasında meydana gelen hidrolizatlarının radikal süpürme aktivitesi yüksektir ayrıca serbest radikaller ve fenolik maddeler gibi ortamdaki serbest reaktif indirgen oksijen moleküllerini absorbe eden maddeler biyoaktif molekülleri koruyucu etki göstermektedir. Ayrıca fenolik maddeler ve flavonoidlerin yapısındaki hidroksil grupları serbest radikallerin süpürülme etkisini de arttırmaktadır. Diğer taraftan çalışmamızda

kefir örneklerinde depolama süresince artma ve azalma eğilimleri de göstermiştir. Bu da muhtemelen biyoaktif moleküllerin depolama süresince indirgenmesinden kaynaklanmaktadır. Değişimlerle ilgili diğer faktörde kefir matriksinde olası bulaşan saprofit mikroorganizmalar yarışmacı bir ortam oluşturmakta ve son üründe özellikle depolama sürecine biyoaktif molekülleri indirgeyerek yapılarını bozmakta neticede antioksidan aktivitenin değişmesine neden olabilmektedir. Sonuç olarak çalışmamızda antioksidan aktivitenin değişimlerin yukarıda sıralanan faktörlerden etkilendiğini ifade edebiliriz (Liu ve ark. 2007, Nadeem ve ark. 2013). Antioksidan aktivite farklı yöntemlerle ifade edilebilmektedir. İnek sütü ve meyve karışımları kullanılan bir çalışmada ORAC yöntemiyle 13.3075 $\mu\text{mol/ml}$ -17.3594 $\mu\text{mol/ml}$ aralığında antioksidan aktivite tespit edilmiştir. Araştırmadan elde edilen bulgulara göre meyve kullanımının antioksidan aktiviteyi arttırdığı sonucuna varılmıştır (Kök Taş ve ark., 2014). Sabokbar ve Khodayan (2016) kefir daneleri

kullanılarak üretilen peyniraltı suyu bazlı içeceklerde DPPH radikalini süpürme yöntemini de içeren bir dizi antioksidan aktivite tayini neticesinde kefir içeceklerinde aktivitenin fermentasyon sıcaklığı ve dane oranına göre değiştiğini belirlemişlerdir. Süt ve süt serumunda antioksidan aktivite serum albümin, laktoferrin, demir bağlayıcı glikoproteinler ve tirozin, sistein gibi amino asitlerin serbest radikalleri tutuklayıcı aktivitelerinden kaynaklanmaktadır. Fermente ürünlerde ayrıca serum proteinleri bazlı bazı peptid zincirleri de antioksidan aktiviteyi arttırmaktadır (Chatterton ve ark. 2006). Fermente içeceklerde antioksidan aktiviteyi etkileyen bir diğer öge de fenolik maddelerdir. Özellikle depolama süreçleri boyunca kefirlerde saptanan antioksidan madde artışları serum bazlı proteinlerin hidrolizi sonucu ortaya çıkan sistein gibi H⁺ atomu tutuklayıcı aminoasitlerle fenolik bileşenler arasındaki sinerjik etkileşimden kaynaklanmaktadır (Shahidi ve

ark. 1994). Öte yandan bu çalışmada olduğu gibi kefir kültürü/danenin mikrobiyal ekolojisinde yer alan laktik asit bakterilerinin cinsler, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum* gibi bakteri türleri mikrobiyal ekolojide bulunması ya da bu bakterilerin destek kültür olarak kullanımı ile bunların hücre içi ve hücre dışı enzimlerinin aktivitesi de üretilen kefirlerin antioksidan aktivite değerlerini etkilemektedir (Liu ve ark. 2005; Sabokbar ve Khodaiyan 2016; Khan ve ark. 2017; Abou-Dobara ve ark. 2017; Shi ve ark. 2018).

Toplam fenolik madde miktarı

Kefirlerin fenolik madde miktarı okunan absorbans değerleri standart eğriden elde edilen formül kullanılarak mg gallik asit/ml olarak hesaplanmıştır. Depolama süreci boyunca yapılan fenolik madde miktarlarının depolama süresince değişimi Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 4. Depolama günlerine göre fenolik madde miktarı (mg gallik asit/ml).

Table 4. Phenolic compounds amount according to storage days (mg gallic acid/ml).

Depolama Günleri	% 100 Manda (1)	Manda-İnek (2)	Manda-Koyun (3)	Manda-Keçi (4)	Manda-İnek-Koyun-Keçi (5)
1	0.13±0.01 ^{Aa}	0.17±0.01 ^{Aa}	0.23±0.05 ^{Bb}	0.27±0.04 ^{Bb}	0.36±0.05 ^{Cc}
7	0.16±0.01 ^{Aa}	0.21±0.05 ^{Bb}	0.13±0.01 ^{Aa}	0.26±0.03 ^{Bb}	0.19±0.03 ^{Aab}
14	0.17±0.03 ^{Aa}	0.21±0.05 ^{Bb}	0.30±0.01 ^{Cc}	0.41±0.06 ^{Dd}	0.29±0.02 ^{Cc}
21	0.14±0.02 ^{Aa}	0.14±0.02 ^{Aa}	0.33±0.05 ^{Cc}	0.41±0.06 ^{Dd}	0.47±0.10 ^{Dd}
28	0.27±0.02 ^{Bb}	0.35±0.02 ^{Cc}	0.21±0.02 ^{Bb}	0.33±0.02 ^{Cc}	0.27±0.04 ^{Bb}

Not: Farklı harfleri taşıyan kefir örnekleri arasındaki fark önemlidir (p < 0.05).

^{a,b,c,d}: İlgili kolondaki kefir örneği için fenolik madde miktarı arasındaki farklılıkları ifade eder.

^{A,B,C,D}: İlgili satırdaki kefir örnekleri için fenolik madde miktarı arasındaki farklılıkları ifade eder.

Kontrol örneği olan (1) manda sütü kefir ile manda-inek sütü (2) ve manda-keçi sütü karışımıyla üretilen (4) kefirlerin fenolik madde miktarları depolama sürecinin sonunda artmıştır. Manda-koyun sütü (3) kefir ile manda-inek-koyun-keçi sütü karışımıyla üretilen (5) kefirin ise toplam fenolik madde miktarı depolama sürecinin sonunda azalmıştır. Sonuç olarak yapılan çalışmada gerek kefir üretiminde kullanılan süt karışımlarının ve gerekse depolama süreçlerinin kefirlerin toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi önemli bulunmuştur (p < 0.05). Yapılan bir çalışmada kefir danesi ile içeceklerde toplam fenolik madde miktarının kullanılan dane oranı ve fermentasyon sıcaklığı arttıkça yükseldiğini ifade etmişlerdir (Sabokbar ve Khodaiyan, 2016). Özellikle fermentasyon sıcaklığındaki artış kefir kültürü/danesi mikrobiyotasındaki mikroorganizmaların metabolik aktivitesi ile enzimlerin aktivitesini arttırmaktadır.

Ayrıca çalışmamızda bazı kefir örneklerinde görüldüğü gibi; fermentasyon sırasında kefir yapısında bulunan mikroorganizmalar fenolik bileşenler gibi biyoaktif komponentlerin düzeyini etkilemektedir. β-glukosidaz gibi enzimler fermentasyon sırasında kompleks yapıdaki fenolik bileşenleri daha basit yapılara hidrolize ederek toplam fenolik madde miktarını arttırmaktadır. Mikrobiyal kaynaklı proteazlar gibi bazı enzimler, süt çeşitlerine göre değişen serum proteinlerinin yapısı ile starter kültür bileşiminde yer alan laktik asit bakterileri ve diğer mikroorganizmalar da fenolik madde miktarını arttırmaktadır (Coda ve ark. 2012; Sabokbar ve Khodaiyan 2016). Barat ve Özcan (2016), fermente süt içecekleri üzerine gerçekleştirdikleri çalışmalarında toplam fenolik madde miktarını 0.38 mg gallik asit/ml olarak belirlemişler ve bulgularımızın yapılan çalışmada elde edilen değerlerle benzer olduğu görülmüştür.

Proteinlerin hidroliz derecesi

OPA metodu proteinlerin hidroliz derecesini tespit edebilmek adına, üründe bulunan serbest amino gruplarını, starter kültürlerin ve üründeki diğer mikroorganizmaların proteolitik aktivitesini

tayin etmek için kullanılmaktadır (Sousa ve ark. 2001). Proteinlerin hidroliz derecesi ml'de içerdiği mg serin miktarına göre yorumlanmış ve depolama süreci boyunca proteinlerin hidroliz oranlarının değişimi Çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5. Depolama günlerine göre proteinlerin hidroliz derecesi (mg serin/ml).

Table 5. The degree of hydrolysis of proteins according to storage days (mg serine/ml).

Depolama Günleri	% 100 Manda (1)	Manda-İnek (2)	Manda-Koyun (3)	Manda-Keçi (4)	Manda-İnek-Koyun-Keçi (5)
1	0.41±0.03 ^{Aa}	0.26±0.04 ^{Bd}	0.12±0.01 ^{Ce}	0.26±0.03 ^{Bd}	0.19±0.03 ^{Bg}
7	0.34±0.05 ^{Aa}	0.49±0.04 ^{Ab}	0.30±0.01 ^{Bd}	0.41±0.06 ^{Aa}	0.29±0.02 ^{Bd}
14	0.36±0.05 ^{Aa}	0.61±0.10 ^{Dc}	0.23±0.04 ^{Bd}	0.27±0.04 ^{Bd}	0.36±0.05 ^{Aa}
21	0.50±0.10 ^{Ab}	0.50±0.04 ^{Ab}	0.33±0.05 ^{Ba}	0.54±0.06 ^{Bb}	0.47±0.1 ^{Ab}
28	0.65±0.19 ^{Dc}	0.45±0.08 ^{Ab}	0.44±0.13 ^{Aa}	0.92±0.06 ^{Ef}	0.82±0.02 ^{Ef}

Not: Farklı harfleri taşıyan kefir örnekleri arasındaki fark önemlidir (p < 0.05).

^{a,b,c,d,e,f,g}: İlgili kolondaki kefir örneği için proteinlerin hidroliz derecesi arasındaki farklılıkları ifade eder.

^{A,B,C,D,E}: İlgili satırdaki kefir örnekleri için proteinlerin hidroliz derecesi arasındaki farklılıkları ifade eder.

Her bir örneğin depolama süresince başlangıç değerlerine göre proteinlerinin hidroliz derecesinin arttığı tespit edilmiştir (p < 0.05). Çalışmamızda olduğu gibi El ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada keçi sütünden üretilen kefirlerde proteinlerin hidroliz derecesi % 26.1 olarak belirlenmiş ve oranın depolama süresince artış yönlü seyir izlediği belirtilmiştir. Benzer yönlü bir değişim ya da diğer bir ifade tarzıyla proteolize bağlı protein miktarında azalma Tomar ve ark. (2020)'da inek ve manda sütlerinden kefir kültürü ve danesi kullanılarak üretilen kefirlerde de gözlenmiştir.

Mikrobiyolojik özellikler

Çalışma kapsamında üretilen kefir örneklerinin mikrobiyolojik profillerinin belirlenmesi amacı ile yapılan analizlerin sonuçları Çizelge 6, 7 ve 8'de verilmiştir.

Manda sütü kefiri (1), manda-inek sütü karışımıyla üretilen (2) kefir ve manda-keçi sütü karışımıyla üretilen (4) kefir örnekleri birbiriyle anlamlı bir benzerlik göstermiş ve başlangıç değerlerine göre *Lactobacillus* spp. sayısının azalış gösterdiği örnek grupları olmuştur (p < 0.05). Manda-koyun sütü karışımıyla üretilen (3) kefirler ise diğer örneklere göre daha düşük *Lactobacillus* spp. sayısına sahip iken depolama sürecinin sonunda istatistiksel açıdan önemli bir düşüş göstermeyen kefir örnekleri olarak belirlenmiştir (p < 0.05). Tüm sütlerin karışımıyla üretilen kefir (5) başlangıçta en yüksek *Lactobacillus* spp. Sayısına sahipken depolama sürecinin sonunda en düşük *Lactobacillus* spp. sayısına sahip örnek olmuştur.

Çizelge 6. Depolama günlerine göre *Lactobacillus* spp. sayısı (log kob/ml).

Table 6. According to the storage days *Lactobacillus* spp. count (log cfu/ml).

Depolama Günleri	% 100 Manda (1)	Manda-İnek (2)	Manda-Koyun (3)	Manda-Keçi (4)	Manda-İnek-Koyun-Keçi (5)
1	4.14±0.21 ^{Aa}	4.41±0.28 ^{Aac}	3.82±0.34 ^{Bad}	4.82±0.54 ^{Ac}	5.59±0.30 ^{Cbc}
7	7.09±0.12 ^{Bb}	10.00±0.10 ^{Ee}	4.95±0.20 ^{Ac}	2.91±0.15 ^{Bd}	4.54±0.09 ^{Aac}
14	4.68±0.01 ^{Ac}	4.36±0.01 ^{Aac}	4.59±0.02 ^{Ac}	2.45±0.14 ^{Fe}	3.91±0.08 ^{Bad}
21	4.20±0.07 ^{Aa}	4.00±0.01 ^{Aa}	3.50±0.07 ^{Bd}	2.90±0.01 ^{Bd}	2.40±0.01 ^{Fe}
28	3.10±0.10 ^{Bd}	3.30±0.10 ^{Bd}	3.30±0.10 ^{Bd}	3.10±0.01 ^{Bd}	2.00±0.07 ^{Fe}

Not: Farklı harfleri taşıyan kefir örnekleri arasındaki fark önemlidir (p < 0.05).

^{a,b,c,d,e}: İlgili kolondaki kefir örneği için *Lactobacillus* spp. sayısı farklılıklarını ifade eder.

^{A,B,C,D,E,F}: İlgili satırdaki kefir örnekleri *Lactobacillus* spp. sayısı farklılıklarını ifade eder.

Depolama süreci boyunca yapılan *Streptococcus* spp.'leri sayılarının değişimi Çizelge 7'de verilmiştir. Manda sütü kefiri (1), manda-koyun sütü karışımıyla üretilen (3) kefir ve manda-keçi sütü karışımıyla üretilen (4) kefirler birbirleri ile anlamlı bir benzerlik gösterirken başlangıç değerlerine göre *Lactococcus* spp. sayısının yüksek oranda düştüğü örnek grubunu oluşturmışlardır ($p < 0.05$). Manda-inek (2) ve tüm sütlerin karışımıyla (5) üretilen kefirler başlangıçta benzer özelliklere sahip iken depolama sürecinin sonunda *Lactococcus* spp. sayısındaki düşüşün 5 numaralı kefir örneklerinde daha fazla olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$).

Manda sütü kefiri (1) diğer örneklerle kıyasla başlangıçta en yüksek maya sayısına sahiptir ve her bir örnekte olduğu gibi maya miktarı 28. depolama gününde azalmıştır (Çizelge 8). Başlangıçta benzer sayıda maya içeren kefir örneklerinden manda-inek sütü karışımıyla üretilen (2) kefir ile manda-koyun sütü karışımıyla üretilen (3) kefir örneklerinde depolama sürecinin sonunda maya sayılarındaki düşüşün daha fazla olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Başlangıçta maya sayıları açısından farklı özelliklere sahip olan manda-keçi sütü kefiri (4) ve tüm sütlerin karışımıyla

üretilen kefirler depolama sürecinin sonunda benzer özellikler sergilemiştir ($p < 0.05$). Maya sayılarının değişimi açısından en stabil örnek grubunu manda-keçi sütünden hazırlanmış kefir grubu oluşturmuştur.

Kefir örneklerinde mikrobiyolojik sayımların tamamının irdelendiğinde genelde 28 günlük depolama süresinde artış ve azalışlar yönünde değişken bir seyir izlenmiş 28. günde ise örneklerin hepsinde azalma görülmüştür. Bu değişimde kefirlerde depolama süresince gözlenen asitlik artışı ve kültür mikroorganizmalarınca üretilen antimikrobiyal maddeler ile serbest yağ asidi miktarlarının inhibe edici etkisinin olduğu düşünülmektedir. Köktaş ve ark. (2014)'nın çalışmasında üretilen kefir örneklerinde depolama boyunca 7.99-9.35 log kob/ml arasında değişen *Lactobacillus* spp, 8.93-9.91 log kob/ml arasında değişen *Lactococcus* spp. ve 2,00-5,40 log kob/ml arasında değişen maya sayısı tespit edilmiştir. Gül ve ark. (2015), kefir dane ve kültürü kullanılarak üretilen inek ve manda sütü kefirlerinden manda sütünden üretilenlerde *Lactobacillus* spp'leri hariç mikroorganizma sayılarının tüm depolama süreçlerinde yüksek olduğunu saptanmış, maya sayılarının

Çizelge 7. Depolama günlerine göre *Lactococcus* spp. / *Streptococcus* spp. sayısı (log kob/ml).

Table 7. According to the storage days *Lactococcus* spp. / *Streptococcus* spp. count (log cfu/ml).

Depolama Günleri	% 100 Manda (1)	Manda-inek (2)	Manda-Koyun (3)	Manda-Keçi (4)	Manda-inek-Koyun-Keçi (5)
1	21,01±0,10 ^{Aa}	14,67±0,10 ^{Bd}	19,27±0,50 ^{Aa}	22,91±0,40 ^{Aa}	12,02±0,30 ^{Bg}
7	19,01±0,11 ^{Aa}	14,59±0,10 ^{Bd}	18,27±0,20 ^{Cf}	16,36±0,15 ^{Cf}	10,00±0,10 ^{Bg}
14	4,54±0,10 ^{Db}	4,54±0,08 ^{Db}	16,27±0,60 ^{Cf}	12,91±0,30 ^{Bg}	12,72±0,30 ^{Bg}
21	3,10±0,10 ^{Ec}	2,80±0,03 ^{Ec}	1,90±0,07 ^{Fe}	2,20±0,01 ^{Fe}	1,70±0,10 ^{Fe}
28	2,90±0,10 ^{Ec}	2,20±0,10 ^{Fe}	2,10±0,10 ^{Fe}	2,40±0,10 ^{Fe}	1,50±0,10 ^{Fe}

Not: Farklı harfleri taşıyan kefir örnekleri arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

a,b,c,d,e,f,g: İlgili kolondaki kefir örneği için *Lactococcus* spp. / *Streptococcus* spp. sayısı farklılıklarını ifade eder.

A,B,C,D,E,F: İlgili satırdaki kefir örnekleri *Lactococcus* spp. / *Streptococcus* spp. sayısı farklılıklarını ifade eder.

Çizelge 8. Depolama günlerine göre maya sayısı (log kob/ml).

Table 8. According to the storage days yeast count (log cfu/ml).

Depolama Günleri	% 100 Manda (1)	Manda-inek (2)	Manda-Koyun (3)	Manda-Keçi (4)	Manda-inek-Koyun-Keçi (5)
1	11.63±0.11 ^{Aa}	6.59±0.08 ^{Be}	7.05±0.17 ^{Be}	3.55±0.16 ^{Cd}	4.73±0.30 ^{Db}
7	4.59±0.12 ^{Db}	3.86±0.10 ^{Cd}	2.50±0.01 ^{Ef}	1.91±0.05 ^{Eg}	3.45±0.09 ^{Cd}
14	4.22±0.01 ^{Dc}	3.68±0.01 ^{Cd}	2.95±0.02 ^{Ef}	2.59±0.01 ^{Ef}	2.73±0.01 ^{Ef}
21	3.90±0.07 ^{Ccd}	4.10±0.01 ^{Dc}	3.50±0.07 ^{Cd}	3.20±0.01 ^{Edf}	2.70±0.01 ^{Ef}
28	3.60±0.07 ^{Cd}	4.40±0.07 ^{Dbc}	3.00±0.07 ^{Ef}	2.85±0.01 ^{Ef}	2.10±0.07 ^{Eg}

Not: Farklı harfleri taşıyan kefir örnekleri arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

a,b,c,d,e,f,g: İlgili kolondaki kefir örneği için maya sayısı farklılıklarını ifade eder.

A,B,C,D,E: İlgili satırdaki kefir örnekleri maya sayısı farklılıklarını ifade eder.

depolama süreci sonunda düşük düzeyli azalma gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu arada kefir danesi kullanılarak üretilen inek ve manda sütü kefirlerinde belirlenen mikroorganizma sayılarının daha yüksek olduğu vurgulanmıştır. Tomar ve ark. (2020)'larınca inek ve manda sütlerinden üretilen kefirlerde *Lactobacillus* spp, *Lactococcus* ssp ve *Leuconostoc* spp'leri ile maya sayılarının değişimine depolama süreçleri boyunca kullanılan süt çeşitlerinin önemli etkisinin bulunmadığı ve bu örneklerde *Lactobacillus* spp. ile *Lactococcus* spp. sayılarının yaklaşık 8.00 log kob/ml, *Leuconostoc* spp. sayılarının 5.50-6.00 log kob/ml ve maya sayılarının ise 3.50-5.50 log kob/ml olarak belirlendiği ifade edilmektedir. Yukarıda değinilen çalışmalar dikkate alındığında belirlenen sayıların yüksekliği depolama süreçlerinin, kullanılan süt çeşitlerinin ve kullanılan kültür/dane çeşitleri ile oranlarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada yüksek kuru madde ve yağ içeriğine sahip manda sütünün tek başına kullanıldığında ve yine aynı özelliklere sahip koyun sütü ile karışımında karşılaşılabilen lezzet ve aroma yoğunluğu nedeni ile diğer ruminant sütleri ile belli oranlardaki karışımlarının

kefir üretiminde kullanım olanakları incelenmiştir. İnek ve keçi sütü ile karışımlarının yapılan analiz sonuçlarına göre daha iyi bulgular ortaya koyduğu görülmüştür.

Çalışmada üretilen kefirlerin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri ile antioksidan, proteolitik ve fenolik aktiviteleri kullanılan süt karışımlarından önemli düzeyde etkilenmiştir. Manda sütünün ve manda sütünün diğer sütlerle belli oranlardaki karışımlarının kefir üretiminde kullanımı geleneksel kefir üretiminde bir alternatif teşkil etse de üretimde homojenizasyon işleminin uygulanması ve depolama sürecinin kısaltılması üretilen kefirlerin özelliklerini önemli ölçülerde iyileştirebileceği ifade edilebilir.

Ayrıca tüm Dünyada organik ve sağlıklı gıdalara yönelik probiyotiklerin günlük ve düzenli olarak belli düzeyde tüketimini gerekli kılmaktadır. Bu açıdan bakıldığında kefirlerin fonksiyonel özelliklerinin probiyotik bakterilerce zenginleştirilmesi tüketim eğilimlerinin daha ilgi çekici hale gelmesini sağlayabilecektir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya (FYL-2019-20613) finansal destek veren Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Abou-Dobara, M.İ., M.M. Ismail and N.M. Refat. 2017. Preparation of functional fermented dairy product containing high levels of omega-6, omega-9, antioxidants activity and probiotic. *Diabetes Monag* 7 (3) 306-318.
- Akan, E., Yerlikaya, O. ve Kınık, Ö. 2014. Süt Çeşitleri, Besin Değerleri ve İşleme Teknolojilerine Uygunluğu. <https://sutednyasi.com/makaleler/bilimsel/sut-cesitlerinin-besin-degerleri-ve-isleme-teknolojilerine-uygunlugu/>.
- Anandharaj, M.B. Sivasankari and R.P. Rani. 2014. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on Hypercholesterolemia: A review. *Chinese J. Biol.*, Article ID572754, 7.
- Association of Official Analytical Chemists AOAC. 1997. Official Methods of Analysis (16th ed.) Association of Official Analytical Chemists Washington DC.
- Association of Official Analytical Chemists – AOAC. 2012a. Official Methods of Analysis of AOAC International (Solids (Total) in Milk. 990.20, 19th ed.). Gaithersburg: AOAC.
- Association of Official Analytical Chemists – AOAC. 2012b. Official Methods of Analysis of AOAC International (Nitrogen (Total) in Milk. Kjeldahl Method. 2000.20, 19th ed.). Gaithersburg: AOAC.
- Association of Official Analytical Chemists – AOAC. 2012c. Official Methods of Analysis of AOAC International (Fat Content of Raw and Pasteurized Whole Milk. 2000.18, 19th ed.). Gaithersburg: AOAC.
- Association of Official Analytical Chemists – AOAC. 2012d. Official Methods of Analysis of AOAC International (Acidity, Titrimetric Methods. 947.05, 19th ed.). Gaithersburg: AOAC.
- Barat, A. ve T. Özcan. 2016. Fermente Süt İçeceğinde Probiyotik Bakterilerin Gelişimi Üzerine Meyve İlavasının Etkisi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 2016, 53 (3):259-267 ISSN 1018 – 8851.
- Budak, N. ve Z. Güzel-Seydim. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of wine vinegars produced by two different techniques. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90: 2021-2026.
- Coda, R., A. Larena, A. Trani, M. Gobetti, R.D. Cagno. 2012. Yoghurt-like beverages made of mixture of a mixture of cereals, soy and grape must: microbiology, texture, nutritional and sensory properties. *Int.J.Food Microbiol.* 155:120-127.
- Demirgöl, F. ve Sağdıç, O. 2018. Fermente Süt Ürünlerinin İnsan Sağlığına Etkisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (13), 45-53. DOI: 10.31590/ejosat.377798.
- Diñç, A. 2008. Kefirin Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- El, S.N., S. Karakaya, Ş. Şimşek, D. Dupont, E. Menfaatli ve A.T. Eker. 2015. In vitro Digestibility of Goat Milk Kefir with New Standardised Static Digestion Method (INFOGEST Cost Action) and Bioactivities of the Resultant Peptides. *Food & Function*, Royal Society of Chemistry. DOI: 10.1039/c5fo00357a.
- Elgarhy, M.R., M.M. Omar, I. A.A. Abou Ayana and S.A. Khalifa. 2018. Kefir Production From Cow's and Buffalo's Milk Under Egyptian Conditions.

- Ergin, F., G. Öz, Ü. Özmen, Ş. Erdal, E. Çavana ve A. Küçükçetin. 2017. Sütün Homojenizasyonunun Kefirin Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi. *Akademik Gıda* 15(4) (2017) 368-376, DOI: 10.24323/akademik-gida.370105.
- Esmek, E. ve Güzeler, N. 2015. Kefir ve Kefir Kullanılarak Yapılan Bazı Ürünler. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*. 19 (4) 250-258.
- FDA-BAM, 2001. Yeasts, molds and mycotoxins. Bacteriological analytical manual, Chapter 18, April, 2001. (<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-yeasts-molds-and-mycotoxins>).
- Gül, O., M. Mortaş, I. Atalar, M. Dervisoglu ve T. Kahyaoglu. 2015. Manufacture and Characterization of Kefir Made From Cow and Buffalo Milk, Using Kefir Grain and Starter Culture. *J. of Dairy Science* 98: 1517-1525.
- Hosono, A., T. Kashina and T. Kada. 1986. Antimutagenic properties of lactic acid cultured milk on chemical and fecal mutagens. *J. of Dairy Science*, 69:2237-2242.
- Khan, I.T., M. Nadeem, M. Imran, M. Ayaz, M. Ajmal, M.Y. Ellahi, A. Khaliq. 2017. Antioxidant capacity and fatty acids characterization of heat treated cow and buffalo milk. *Lipids in health and disease* 16 (163) 1-10.
- Kınık, Ö. ve O. Yerlikaya. 2015. Manda Sütü ve Özellikleri, Sidas Medya.
- Kocadağ Kocazorbaz, E., Un, R.N., Erdag, A., Zihnioglu, F. 2017. "Inhibitory Effects of Some Bryophytes on Glutathione-S – Transferase", *Current Enzyme Inhibition*, 13, 34-40.
- Kök Taş, T., İlay, E., Öker, A. 2014. Pekmez ve Erik Kullanılarak Üretilen Kefirlerin Bazı Kalite Kriterlerinin Belirlenmesi. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(2): 86-91, 2014.
- Liu, J.R., Y.Y. Lin, M.J. Chen, L.J. Chen, C.W. Lin. 2005. Antioxidative activities of kefir. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 18 (4) 567-573.
- Liu, H.C., Chen, W.L. and Mao, S.J.T. 2007. Antioxidant nature of bovine milk β -Lactoglobulin. *J Dairy Sci* 2007;90:547-55. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71538-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71538-2).
- Lopitz-Otsoa, E., A. Rementeria, N. Elguezabal and J. Garaziar. 2006. Kefir: A Symbiotic Yeasts-bacteria Community with Alleged Healthy Capabilities. *Rev Iberoam Micol* 23:67-74.
- Merin, U. and I. Rosenthal. 1986. Production of kefir from UHT milk. *Milchwissenschaft*, 41 (7): 395-396.
- Nadeem M, Abdullah M, Khaliq A, Hussain I, Mahmud A, Inayat S. 2013. The effect of Moringa oleifera leaf extract as antioxidant on stabilization of butter oil with modified fatty acid profile. *J Agric Sci Technol* 2013;15:919-28.
- Oliveira, S.F., I.P. Lobo, R.S. Cruz, J.L. Andrioli, S.M. Mata, G.A. Soares, E.C. Santos, E. Aguiar-Oliveira, M. Franco and A. Oliveira. 2018. Conceição~aoAntimicrobial activity of coconut oil-in-water emulsion on Staphylococcus epidermidis and Escherichia coli EPEC associated to Candida kefyr. *Heliyon* 4 (2018) e00924. doi: 10.1016/j.heliyon.2018. e00924.
- Pavithra, K. and C. Vadivukkarasi. 2015. Evaluation of free radical scavenging activity of various extracts of leaves from Kedrostis foetidissima (Jacq.) Cogn. *Food Science and Human Wellness* 4 (2015) 42–46.
- Rahmawati, I.S. and W. Suntory Suk. 2015. Effects of Fermentation and Storage on Bioactive Activities in Milks and Yoghurts. *Molecular and Cellular Life Sciences: Infectious Diseases, Biochemistry and Structural Biology 2015 Conference*, MCLS 2015.
- Sabokbar, N. and F. Khodaiyan. 2016. Total phenolic content and antioxidant activities of pomegranate juice and whey based novel beverage fermented by kefir grains. *J. Food Sci Technol.* 53 (1) 739-747.
- Shiby, V.K. and H.N. Mishra. 2013. Fermented milks and milk products as functional foods- A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53: 482-96.
- Shi, X., H. Chen, Y. Li, J. Huang, Y. He. 2018. Effects of kefir grains on fermentation and bioactivity of goat milk. *Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology* 43 (1) 43-50.
- Sokolinska, D.S., R. Dankow and J. Pikul. 2008. Physicochemical and sensory characteristics of sheep kefir during storage. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment* 7 (2) 63-73.
- Sousa, M.J., Y. Ardö and P.L.H. McSweeney. 2001. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening, *International Dairy Journal*, 11, 327-345.
- Şatır, G. 2011. Kefir Fermantasyonunun Keçi Sütünün Bazı Fonksiyonel Özelliklerine Etkisinin Belirlenmesi. *Doktora Tezi*.
- Tamime, A. Y. 2006. Production of Kefir, Koumiss and Other Related Products. In: Tamime, A. Y. (ed.), *Fermented Milk* Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, p.174-216.
- Tomar, O., G. Akarca, A. Çağlar, M. Beykaya, V. Gök. 2020. The effects of kefir grain and starter culture on kefir produced from cow and buffalo milk during storage periods. *Food Sci. Technol. Campinas* 40 (1) 238-244.
- Yetişemiyen, A. 1995. Süt Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 1420, Ankara, s: 220.
- Wszolek, M., A.Y. Tamime, D.D. Muir and M.N.I. Barclay. 2001. Properties of kefir made in Scotland and Poland using bovine, caprine and ovine milk with different starter cultures. *Lebensm.-Wiss. u.- Technol.*, 34: 251-261.