

Mikroenkapsüle *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Kullanılarak Üretilen Kefirin Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi

Selin KALKAN^{1*}

ÖZET: Probiyotikler, gastrointestinal sistemi düzenleyen, bağışıklık sistemini uyarıcı ve konakçı sağlığına faydalı canlı mikroorganizma desteği olarak tanımlanmaktadır. *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* patenti alınmış tek probiyotik mayadur. Bu çalışmada *S. boulardii* ekstrüzyon yöntemi ile mikroenkapsüle edilerek üretilen probiyotik kefirlerin kimyasal ve mikrobiyolojik kalite parametrelerinin belirlenmesi ve dolayısıyla *S. boulardii*'nin fonksiyonel özellikte, probiyotik fermente süt ürünlerinin üretiminde kullanılma potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, üretilen probiyotik ürünlerin 28 gün boyunca 4 °C'de depolanması gerçekleştirilmiştir. Depolamanın 1, 7, 14, 21 ve 28. günlerinde, üretilen kefirlerin pH, titrasyon asitliği (% L.A.), kül, toplam kuru madde, protein ve yağ oranları gibi kimyasal özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca örneklerin toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı, toplam maya-küf, toplam koliform, laktik asit bakteri sayısı, toplam mezofilik starter kültür sayısı (*Lactococcus* spp.) ile ürünlerde *S. boulardii*'nin canlılık düzeyi tespit edilmiştir. Tüm analizler 3 tekkerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kefir, mikroenkapsülasyon, Probiyotik, *S. boulardii*

Determining Some of the Quality Properties of Kefir Manufactured by Using Microencapsulated *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*

ABSTRACT: Probiotics are defined as live microorganism support that affects human health positively by regulating the intestinal flora of the host and stimulating the immune system. *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* is the only probiotic yeast that has been patented. In this study, it was aimed to determine the chemical and microbiological quality parameters of probiotic kefir samples manufactured by using this yeast microencapsulated via extrusion method during storage. Therefore, the potential use of *S. boulardii* will be assessed in the production of functional probiotic fermented dairy products. All probiotic kefir samples were stored for 28 days at 4 °C. The chemical properties of samples such as pH, titration acidity (% L.A.), ash, total dry matter, protein and fat rates were determined on 1st, 7th, 14th, 21st and 28th days of storage. Microbiological characteristics such as total mesophilic aerobic bacteria, total coliform, total lactic acid bacteria, total yeast-mold, total mesophilic starter cultures (*Lactococcus* spp.) and viability of the *S. boulardii* were determined by analyzing the samples. All analyzes were performed in triplicate.

Keywords: Kefir, microencapsulation, probiotic, *S. boulardii*

¹ Selin KALKAN (Orcid ID: 0000-0002-4142-3152), Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 28200, Giresun, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Selin KALKAN e-mail: selin.kalkan@giresun.edu.tr

Bu çalışma, Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından FEN-BAP-A-160317-41 proje numarası ile desteklenmiştir.

Geliş tarihi / Received: 21.06.2018
Kabul tarihi / Accepted: 27.09.2018

GİRİŞ

Fermente süt ürünleri içerisinde yer alan kefir, kolaylıkla sindirilebilen, ferahlatıcı, eser miktarda etil alkol içeren ve ekşi tada sahip fermente bir süt ürünüdür. Laktik streptokoklar, termofilik ve mezofilik laktobasiller, leukonostoklar, mayalar (laktozu fermente eden ve edemeyen) ile çoğunlukla asetik asit bakterileri, kefirin doğal mikroflorasını oluşturmaktadır (Güzel-Seydim ve ark., 2005). Kefir danesinde mevcut olan maya ve bakteri türlerinin göstermiş oldukları simbiyotik aktivite sonucunda üründe laktik asit ve etil alkol fermentasyonun bir arada meydana gelmesi, kefiri diğer fermente süt ürünlerinden ayıran en önemli özelliktir (Ünlütürk ve Turantaş, 1998; Yılmaz ve ark.,2006).

Günümüzde prebiyotik ve probiyotik mikroorganizmaları içeren süt ve süt ürünleri tüketici beğenisine sunulmakta ve bunların sağlık yönünden olumlu etkileri üzerinde çalışılmaktadır. Son yıllarda, kefirin sahip olduğu faydalı mikroflorası ve sindirim sistemindeki yararlarıyla tüketim popülerliğinin arttığı bilinmektedir (Sezen ve Koçak, 2006). Probiyotik mikroorganizmaların kullanılarak fonksiyonel bir fermente süt ürününün üretilmiş olduğundan söz edilebilmesi için, probiyotik özellikleri, araştırmalarla kanıtlanmış kültürlerin kullanılması ile bu kültürlerin ürünün üretimi ve olgunlaşması boyunca canlılıklarını sürdürebilmesi gerekmektedir. Aynı zamanda bu kültürlerin, ürünün kompozisyonu, tekstürü ve duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkilememesi beklenmektedir (Stanton ve ark., 1998).

Süt ve süt ürünlerinin üretiminde mayaların önemi oldukça azdır. Yapılan araştırmalarda, mayaların süt ürünlerinin üretiminde starter kültür olarak kullanılması durumunda fermentasyon ve olgunlaşmaya katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (Jakobsen ve Narvhus, 1996). *S. boulardii* patenti alınmış tek Probiyotik mayadır (Sazawal ve ark., 2006).

Genetik olarak *S. boulardii*, *S. cerevisiae* ile benzerlik gösterse de metabolizma ve probiyotik özellikleri açısından önemli farklılıkları mevcuttur (Czerucka ve ark., 2007). *S. boulardii* yüksek sıcaklığa toleranslı maya olarak vücut sıcaklığında 37°C'de gelişim gösterir. Yapılan araştırmalarda *S. boulardii*'nin gastrointestinal sistemde (GİS) diğer türlere göre daha dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Ble'haut ve ark., 1989). Probiyotik gıda üretimini sınırlayan en önemli etken, kullanılan mikroorganizmaların stabilitesini koruyamamaları ve GİS'de canlılıklarını sürdürememesidir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda mikroenkapsülasyon (ME) yönteminin, probiyotiklerin istenilen teknolojik özelliklerinin artırılmasında kullanılan yeni yöntemlerden biri olarak popülerite kazandığı bildirilmektedir. Genel olarak ME teknolojisi ile probiyotik mikroorganizmaların etrafında fiziksel bir bariyer oluşturarak istenmeyen çevre koşullarına karşı mikroorganizmaların canlılığını korumak, bunun yanı sıra beslenme ile ilgili kayıpların da önlenmesini sağlamak istenilmektedir (Kailasapathy, 2002; Argin, 2007; Champagne ve Fustier, 2007; Lacroix ve Yildirim, 2007).

S. boulardii ile ilgili yapılan birçok çalışma, biyoterapötik ajan olarak kullanımının insan sağlığına yararlı olduğunu tespit etmiştir. Probiyotik özellikteki tek maya türü olan *S. boulardii*, fermente süt ve ürünlerinde de kullanılabilen bir mikroorganizmadır. Ancak, *S. boulardii*'nin fermente süt ürünlerinde kullanımı ile oldukça az çalışma bulunmaktadır. Bu çalışma ile bu mayanın biyoterapötik özellikleri süt ürünleriyle birleştirilerek, fonksiyonel yeni fermente bir süt ürünü ortaya çıkarmak hedeflenmiştir. Bu çalışmada, *S. boulardii* ekstrüzyon yöntemi ile mikroenkapsüle edilerek üretilen fonksiyonel özellik kazandırılmış kefir örneklerinin 4 °C'de 28 günlük depolama süresi boyunca kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Liyofize *S. boulardi* Reflor (liyofilize toz; Biocodex, Gentilly, Fransa) olarak temin edilmiştir. Kefir örneklerinin üretiminde ticari starter kültürler (Yayla maya; Doğadan Gıda ve Süt Ürünleri) kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan *S. boulardii* hücreleri 250 mL YEPD (Yeast Extract Peptone Dextrose; 5 g L⁻¹ yeast extract, 10 g L⁻¹ meat peptone ve 20 g L⁻¹ glukoz) besiyerinde aktive edilmiştir. *S. boulardii* mikroenkapsülasyonu için ekstrüzyon yöntemi kullanılmıştır (Chen ve ark., 2006; Krasaekoopt ve ark., 2006; Chen ve ark., 2007). 10¹⁰ KOB mL⁻¹ düzeyinde probiyotik kültürü içeren süspansiyon (% 0.1 pepton ve 0.1mM gliserol) steril %2 sodyum aljinat kaplama materyali çözeltisine, 10⁹ KOB g⁻¹ düzeyinde mikrokapsüller elde edilebilmesi için 1/5 oranında ilave edilmiştir. Elde edilen karışım 11 mm'lik iğnesi olan steril şırınga ile 0.05 M'lık steril CaCl₂ çözeltisi içerisine enjekte edilmiştir. Oluşan kapsüller, yeterli sertliği kazanmaları amacıyla 30 dakika süre ile çözelti içerisinde bekletilmiş, sonra “whatman≠ 4” filtre kağıdı ile süzülerek ve %0.1'lik steril peptonlu su içinde 4°C'de muhafaza edilmiştir (Chen ve ark., 2007). Mikroenkapsüle *S. boulardii* kullanılarak fonksiyonel kefir üretiminde çiğ süt, 85–90 °C'de 20 dakika ısıtılarak pastörize edilmiştir. Sonrasında 20–25 °C'ye soğutulmuş süte %5 oranında kefir kültürü ve mikroenkapsüle edilen *S. boulardii* kültürü ilave edilmiş ve örnekler 20–25 °C'de 18–24 saat fermentasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda örnekler buzdolabı koşullarında olgunlaştırılmış ve elde edilen kefir örnekleri 4 °C'de depolanmıştır (Dinç, 2008).

Kefir örneklerinin kimyasal analizleri depolamanın 1, 7, 14, 21 ve 28. günlerinde gerçekleştirilmiştir. Örneklerin pH değerleri Ohaus marka pH metre ile belirlenmiştir (Kaçar, 2002). Titrasyon asitliği, kuru madde analizi gravimetrik yöntem ile % kuru madde değeri olarak, kül miktarı (%) olarak (AOAC, 1996;

Kurt ve ark., 2003) değerlendirilmiştir. Örneklerin yağ oranı (%) Gerber yöntemine göre (Güngör, 2007), protein içeriği (%) ise Kjeldahl yöntemine belirlenmiştir (Kurt ve ark., 2003).

Mikrobiyolojik analizler için, üretilen probiyotik ürünlerden 10 mL örnek alınarak, içinde 90 mL Maximum Recovery Diluent (MRD, Merck) bulunan erlenlere aktarılarak homojenize edilmiş, 9 mL'lik MRD kullanılarak hazırlanan uygun seyreltilerden, yayma yöntemiyle selektif besiyerlerine ekim yapılmıştır. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA; Merck)'a ekim yapıp 37 °C'da 24 saat, koliform bakteri sayımı için Fluoracult Violet Red Bile Agar (FVRBA; Merck)'a ekim yapıp 37 °C'da 24 saat, laktik asit bakterileri için MSR Agar (Lactobacillus Agar acc. to DE MAN, ROGOSA and SHARPE; Merck) besiyerine ekim yapılarak 30 °C'de 24 saat, toplam maya küf için Patato Dextrose Agar (PDA, Merck) besiyerine ekim yapılarak 25 °C'de 3–5 gün, *S. boulardii* sayımı için ise YEPD (Yeast Extract Peptone Dextrose; 5 g L⁻¹ yeast extract, 10 g L⁻¹ meat peptone ve 20 g L⁻¹ glukoz) besiyerine ekim yapılarak 25 °C'de 3-5 gün, toplam mezofilik starter kültür sayımı için ise M17 Agar (Merck) besiyerine ekim yapılarak 37 °C'de 1 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında gelişen koloni sayıları tespit edilerek örnekte mikroorganizma konsantrasyonu log KOB mL⁻¹ olarak belirlenmiştir (FDA, 1995; Triqueros ve ark., 2016).

Kefir örneklerinin kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları tesadüf blokları deneme planına göre “Windows SPSS 20.0 software” istatistik paket programı (SPSS Inc., Chiago, IL, USA) kullanılarak yorumlanmıştır. Araştırma sonuçları tek yönlü varyans analizi kullanılarak değerlendirilmiştir (Kalkan, 2014; Özen ve Coşkun, 2014).

BULGULAR VE TARTIŞMA

28 günlük depolama periyodu boyunca kontrol grup kefir (KK) örnekleri ile enkapsüle edilmiş *S. boulardii* kullanılarak üretilmiş probiyotik kefir örneklerinin (SK) kimyasal özellikleri Çizelge 1’de gösterilmiştir. Kefirin asitlik değeri, Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği’ne göre, en az %0,6 olması gerekmektedir. Çalışmamızda üretimi yapılan kefir örneklerinin asitlik değerinin Tebliğ’de belirtilen bu değere uygun olduğu gözlemlenmiştir. KK grup örnekler ile SK grup örneklerin depolama boyunca belirlenen pH değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamış iken, titrasyon asitliği değerleri (% L.A.) arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$). Taş ve ark. (2014) benzer olarak, kefir örneklerinin hepsinde depolama boyunca pH değerlerinde bir azalma, asitlik değerlerinde ise bir artma olduğunu tespit etmişlerdir. Dinç (2008) tarafından yapılan çalışmada 120 adet kefir örneğinin pH değeri ortalama 4.21 olarak saptanmıştır. Malek ve ark. (2009), kefir örneklerinin pH değerlerini 4.14 - 4.46, titrasyon asitliğini ise 0.80 olarak (% laktik asit cinsinden) olarak tespit etmişlerdir. Daştan (2015) yapmış olduğu çalışmada incelediği kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerini (% L.A.) 0.47 – 0.62 arasında olduğunu tespit etmiş iken, Dinç (2008) çalışmamıza benzer olarak kefir örneklerinin ortalama titrasyon asitliği değerinin (% L.A.) 0.78 olduğunu belirtmiştir. Çalışmamız sonuçlarına göre, KK grup örnekler ile SK grup örneklerin kuru madde değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($P<0.05$). Enkapsüle edilmiş *S. boulardii* kullanılarak yapılan kefir üretimi, kefir kuru maddesi üzerinde önemli bir değişikliğe yol açmamıştır. Dinç (2008) tarafından yapılan çalışmada kontrol grup kefirin kuru madde oranı %13.29 olarak bulunmuştur. Wszolek ve ark. (2001) üretimi yapılan kefir örneklerinde kuru madde miktarını ortalama %11.67, Irigoyen ve ark. (2005) ise %11.70 olarak, çalışmamıza

yakın değerlerde belirlemişlerdir. Çalışmamız sonucunda tespit edilen kül değerleri (%) Taş ve ark. (2014) çalışma sonuçlarına benzerlik göstermektedir. Araştırmacılar kefirlerin % kül miktarını %0.55 -0.66 olarak tespit etmişlerdir. Kefir örneklerinin protein oranları (%) değerlendirildiğinde mikroenkapsüle edilmiş *S. boulardii* kullanılarak yapılan kefir üretiminin, protein değerleri üzerine herhangi bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği’ne göre kefirin protein miktarının en az %2.8 olmalıdır. Çalışmamız sonuçlarının bu değer üzerinde olduğu, dolayısıyla üretilen kefir örneklerinin tebliğe uygun olduğu belirlenmiştir. Dinç (2008) tarafından yapılan çalışmada, çalışma sonuçlarımıza benzer olarak kefir örneklerinin ortalama protein miktarı %3.71 oranında tespit edilmiştir. Her iki kefir grubu yağ oranları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($P<0.05$). Güngör (2007) tarafından yapılan çalışmada yağ oranları ortalama olarak %2.01 olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamız sonucunda tespit edilen KK grup kefir örnekleri ile SK grup kefir örneklerinin mikrobiyolojik analiz değerleri Şekil 1 ve Çizelge 2’de gösterilmiştir. Şekil 1’de de görüldüğü üzere her iki grup kefir örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) değerleri depolama süresi boyunca düzenli olarak artış göstermiştir. KK grup kefir örnekleri ile SK grup kefir örneklerinin TMAB değerleri arasında yaklaşık 1 logaritmik birimlik bir fark bulunmaktadır ve fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$). Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği’ne göre kefirin TMAB düzeyinin en az 10^7 log KOB mL⁻¹ olması gerektiği belirtilmiştir. Taş ve ark. (2014) yapmış oldukları çalışmada, kontrol kefir ile meyveli kefir örneklerinin TMAB düzeylerini 9.08; 9.19 ve 9.80 log KOB mL⁻¹ olarak tespit etmişlerdir. KK grup kefir örnekleri ile SK grup kefir örnekleri arasında maya-küf sayısı açısından önemli bir fark olduğu

görülmektedir ($P<0.05$). Bu durumun SK grup kefir örneklerinin üretimleri sırasında %5 oranında ilave edilen mikroenkapsüle edilmiş *S. boulardii* kullanımında kaynaklandığı düşünülmektedir. Böylelikle çalışmada

hedeflenen Probiyotik mikroorganizma düzeyinin artırılmasının başarıldığı görülmektedir. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'ne göre kefir en az 10^4 log KOB mL^{-1} düzeyinde maya içermesi gerekmektedir.

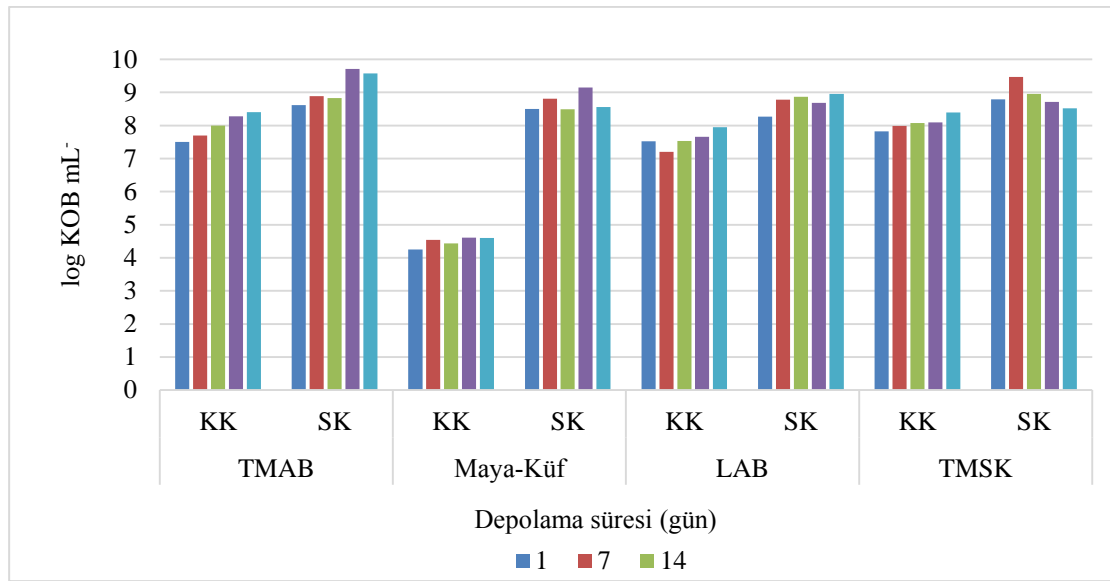
Çizelge 1. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca kimyasal analiz sonuçları

Kimyasal analizler	KK Grup*				
	Depolama süresi (gün)				
	1	7	14	21	28
pH	4.36±0.13 ^{aA}	4.43±0.24 ^{aA}	4.32±0.07 ^{aA}	4.20±0.09 ^{aA}	4.27±0.14 ^{aA}
T.A. (% L.A.)	0.75±0.01 ^{aA}	0.85±0.03 ^{bB}	0.85±0.02 ^{bB}	0.85±0.01 ^{bB}	0.93±0.02 ^{cC}
Kül (%)	0.58±0.03 ^{aA}	0.56±0.02 ^{aA}	0.52±0.10 ^{aA}	0.57±0.07 ^{aA}	0.56±0.08 ^{aA}
KM (%)	12.94±0.93 ^{aA}	12.62±0.49 ^{aA}	12.29±0.15 ^{aA}	12.22±0.58 ^{aA}	12.95±0.38 ^{aA}
Protein (%)	3.26±0.22 ^{aA}	3.47±0.23 ^{aA}	3.43±0.13 ^{aA}	3.27±0.16 ^{aA}	3.27±0.12 ^{aA}
Yağ (%)	2.77±0.27 ^{aA}	2.96±0.05 ^{aA}	2.93±0.24 ^{aA}	2.96±0.15 ^{aA}	2.95±0.17 ^{aA}
Kimyasal analizler	SK Grup*				
	Depolama süresi (gün)				
	1	7	14	21	28
pH	4.21±0.00 ^{aA}	4.23±0.06 ^{aA}	4.17±0.07 ^{aA}	4.15±0.01 ^{aA}	4.18±0.02 ^{aA}
T.A. (% L.A.)	0.95±0.02 ^{aC}	0.85±0.01 ^{bB}	1.03±0.02 ^{cD}	0.97±0.03 ^{aC}	0.98±0.03 ^{aC}
Kül (%)	0.59±0.02 ^{aA}	0.53±0.06 ^{aA}	0.49±0.14 ^{aA}	0.50±0.08 ^{aA}	0.51±0.06 ^{aA}
KM (%)	13.48±0.85 ^{aA}	12.70±0.46 ^{abA}	12.25±0.47 ^{cA}	12.25±0.58 ^{cA}	12.69±0.31 ^{abA}
Protein (%)	3.33±0.30 ^{aA}	3.45±0.26 ^{aA}	3.45±0.18 ^{aA}	3.18±0.16 ^{aA}	3.29±0.16 ^{aA}
Yağ (%)	2.87±0.20 ^{aA}	3.10±0.10 ^{aA}	2.93±0.05 ^{aA}	2.97±0.15 ^{aA}	3.03±0.15 ^{aA}

*Ortalama ve std. hata; KK: Kontrol grup kefir örnekleri; SK: Enkapsüle edilmiş *S. boulardii* kullanılarak üretilmiş probiyotik kefir örnekleri; a-c: Aynı satırdaki farklı üst simgeler $P<0.05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir. A-D: Aynı sütündeki farklı üst simgeler $P<0.05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar incelendiğinde, her iki grup kefir örnekleri için tespit edilen maya düzeylerinin bu eşik değer üzerinde olduğu görülmektedir. Mainville ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada kefir örneklerinin 5.09 log KOB mL^{-1} düzeyinde, Guzel-Seydim ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada ise 6.16 log KOB mL^{-1} düzeyinde maya-küf sayısı tespit edilmiştir. Her iki grup kefir örnekleri *Lactobacillus* spp. içerikleri açısından değerlendirildiğinde aralarında yaklaşık 1 logaritmik birimlik bir farklılık bulunduğu ve bu farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Taş ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada kefir

örnekleri *Lactobacillus* spp. (LAB) içerikleri açısından değerlendirildiğinde, örneklerinin LAB düzeyleri 8.99; 9.35 ve 9.11 log KOB mL^{-1} olarak saptanmıştır. Kefir örneklerinin *Lactococcus* spp. (toplam mezofilik starter kültür) düzeyi, *Lactobacillus* spp. değerlerine benzer olarak her iki grup açısından farklılık göstermektedir ve bu farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$). Onaran ve Çufaoğlu (2017) tarafından yapılan çalışmada incelenen kefir örneklerinin *Lactococcus* spp. düzeyi, çalışmamız sonuçlarına benzer olarak 5.3-9.2 log KOB mL^{-1} değerleri arasında değiştiği belirtilmiştir.



Şekil 1. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca mikrobiyolojik analiz sonuçları (log KOB mL⁻¹; KK: Kontrol grup kefir örnekleri; SK: enkapsüle edilmiş *S. boulardii* kullanılarak üretilmiş probiyotik kefir örnekleri; TMAB: Toplam mezofilik aerobik bakteri; LAB: Toplam laktik asit bakterisi; TMSK: Toplam mezofilik stater kültür)

Çizelge 2. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca mikrobiyolojik analiz sonuçları (log KOB mL⁻¹)

Mikrobiyolojik analizler	KK Grup*				
	Depolama süresi (gün)				
	1	7	14	21	28
TMAB	7.50±0.28 ^{aA}	7.70±0.13 ^{abA}	8.00±0.27 ^{ba}	8.28±0.13 ^{ba}	8.40±0.37 ^{cA}
Maya-Küf	4.25±0.06 ^{aA}	4.54±0.12 ^{ba}	4.44±0.35 ^{abA}	4.26±0.43 ^{aA}	4.61±0.49 ^{cA}
LAB	6.52±0.12 ^{ba}	6.20±0.22 ^{aA}	6.53±0.24 ^{ba}	6.66±0.22 ^{bcA}	6.95±0.22 ^{cA}
Toplam koliform	ND ^{aA}	ND ^{aA}	ND ^{aA}	ND ^{aA}	ND ^{aA}
TMSK	6.55±0.50 ^{aA}	6.99±0.11 ^{ba}	7.08±0.11 ^{ba}	7.09±0.07 ^{ba}	7.39±0.47 ^{cA}
Mikrobiyolojik analizler	SK Grup*				
	Depolama süresi (gün)				
	1	7	14	21	28
TMAB	8.66±0.71 ^{ab}	8.88±0.21 ^{bb}	8.82±0.48 ^{bb}	9.71±0.11 ^{dc}	9.57±0.41 ^{cc}
Maya-Küf	8.50±0.71 ^{ab}	8.81±0.51 ^{bb}	8.49±0.90 ^{aA}	9.15±0.33 ^{cc}	8.55±0.43 ^{ab}
LAB	8.27±0.13 ^{ab}	8.78±0.33 ^{bb}	8.86±0.35 ^{abB}	8.68±0.24 ^{bb}	8.95±0.17 ^{cb}
Toplam koliform	ND ^{aA}	ND ^{abA}	ND ^{cA}	ND ^{cA}	ND ^{abA}
TMSK	8.79±0.22 ^{bb}	9.46±0.50 ^{ac}	8.96±0.28 ^{cb}	8.71±0.07 ^{bb}	8.51±0.74 ^{ab}

*Ortalama ve std. hata; KK: Kontrol grup kefir örnekleri; SK: Enkapsüle edilmiş *S. boulardii* kullanılarak üretilmiş probiyotik kefir örnekleri; ND: Tespit edilmedi; a-c: Aynı satırdaki farklı üst simgeler $P<0.05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir. A-C: Aynı sütundaki farklı üst simgeler $P<0.05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

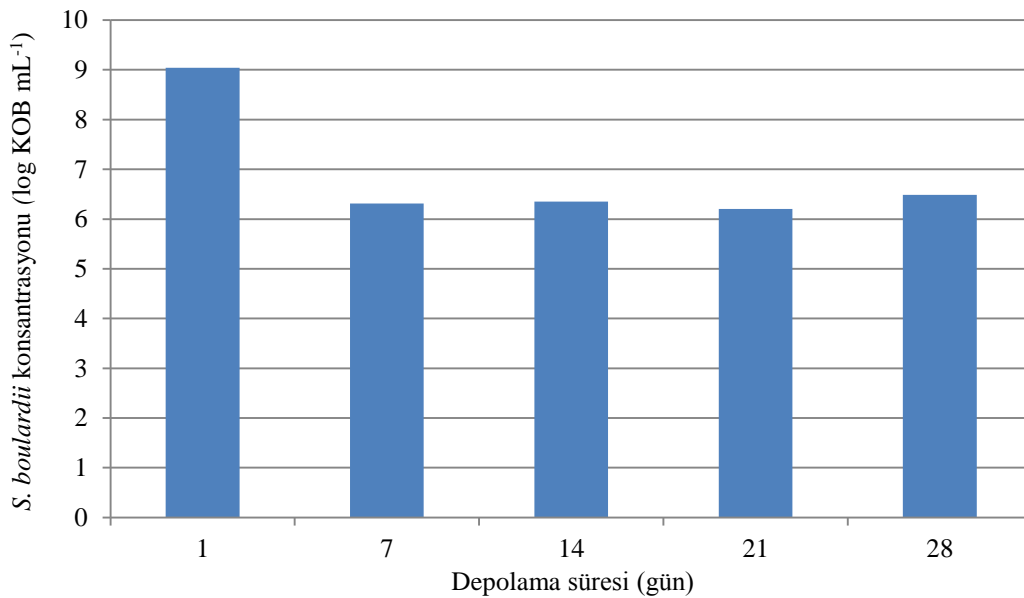
Çalışmamızda üretimi yapılan her iki grup kefir örneklerinin hijyen kontrolü için toplam koliform grup bakteri sayımı da yapılmıştır. Analizler sonucunda, kefir örneklerinin

hiçbirinde toplam koliform bakteri içeriği tespit edilmemiştir

Çalışmamızda üretimi yapılan SK kefir örneklerinin depolama boyunca *S. boulardii* düzeylerindeki değişim Şekil 2'de gösterilmiştir.

Şekil 2’de de gösterildiği gibi, kefir örneklerinin *S. boulardii* düzeyi depolama süresinin başlangıcında 9.04 log KOB mL⁻¹ iken, depolamanın son gününde 6.48 log KOB mL⁻¹ düzeyine düşmüştür. Sağlık etkilerinin görülebilmesi için günlük 10⁶-10⁹ log KOB mL⁻¹ canlı Probiyotik hücrelerinin alımı insanlar için gerekli görülmektedir (Çıray, 2007). Çalışmamız sonuçlarına göre, kefir örneklerinde depolama süresi boyunca *S. boulardii* düzeyi bu sınırlar içerisinde kalmaktadır. Ürünlerin tüketim sonrasında mide-bağırsak sistemlerinde de canlılıklarını bu düzeyde koruması amacıyla *S.*

boulardii’nin aljinat bazlı mikroenkapsülasyon uygulaması yapılmıştır. Ünal ve Erginkaya (2010) aljinat, pektin ve peynir altı suyu proteini ile enkapsüle edilen *Bifidobacterium bifidum*’un *in vitro* koşullarda canlılık süresini artırdığını bildirmektedirler. Mandal ve ark. (2006), farklı aljinat konsantrasyonları (%2, 3 ve 4) ile mikroenkapsüle edilmiş *Lactobacillus casei* NCDC-298 türünün canlılığını araştırmışlardır. Araştırma sonuçları, aljinat konsantrasyonu artışı ile birlikte bakterinin gastrointestinal koşullara dayanımının arttığı ve yüksek canlılık düzeyini korunduğunu göstermiştir.



Şekil 2. Mikroenkapsüle edilmiş *S. boulardii* kullanılarak üretilmiş probiyotik kefir örneklerinin depolama süresince *S. boulardii* değişimi

SONUÇ

Genel olarak araştırma sonuçları değerlendirildiğinde, mikroenkapsüle *S. boulardii* içeren kefir örneklerinin kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin, kefir standart değerleri içerisinde yer aldığı ve tüketime uygun olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen ürün ile genel tüketimi az olan probiyotik süt ürünlerinin tüketiminin artırılması için alternatif bir

fonksiyonel kefir üretimi yapılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, *S. boulardii*’nin süt ve ürünlerinde probiyotik maya olarak kullanımının ürün kalite kriterleri açısından olumlu sonuçlar verdiği belirlenmiştir. *S. boulardii* probiyotik mayasının gıdalarda kullanımı ile ilgili literatür çalışmaları sınırlı olup, daha fazla araştırılması gerekmektedir. Bu çalışma ile elde edilen veriler, konu ile ilgili ileride yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından FEN-BAP-A-160317-41 proje numarası ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- AOAC. 1996. Official Methods of Analysis. Washington DC.
- Argin S, 2007. Microencapsulation of Probiotic Bacteria İn Xanthan-Chitosan Polyelectrolyte Complex Gels, Dissertation, University of Maryland, College Park, USA.
- Ble'haut H, Massot J, Elmer GW, 1989. Disposition Kinetics of *Saccharomyces boulardii* in Man and Rat. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 10: 353–64.
- Champagne C, Fustier P, 2007. Microencapsulation For The Improved Delivery Of Bioactive Compounds Into Foods. *Current Opinion Biotechnology*, 18: 184–190.
- Chen KN, Chen MJ, Lin CW, 2006. Optimal Combination Of The Encapsulating Materials For Probiotic Microcapsules And Its Experimental Verification (R1). *Journal of Food Engineering*, 76: 313–320.
- Chen M, Chen K, Kuo Y, 2007. Optimal Thermotolerance of *Bifidobacterium bifidum* in Gellan–Alginate Microparticles. *Biotechnology and Bioengineering*. 98(2): 411-419.
- Czerucka D, Piche T, Rampal P, 2007. Review article: Yeast as probiotics- *Saccharomycesboulardii*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 26: 767-778.
- Çıray Z, 2007. Piyasada Satılan Ticari Kefirlerin Mikrobiyal Kalitesinin Değerlendirilmesi. İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Daştan S, 2015. Ticari ve Geleneksel Yöntemlerle Üretilen Kefirlerin Mikrobiyolojik Profilinin Belirlenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Dinç A, 2008. Kefirin Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- FDA, 1995. Bacteriological Analytical Manual. Food and Drug Administration 16 th Edition. AOAC Int. Gaithersburg MD.
- Guzel-Seydim ZB, Wyffelst JT, Seydim AC, Greene AK, 2005. Turkish Kefir And Kefir Grains: Microbial Enumeration And Electron Microscopic Observation. *International Journal Dairy Technology*, 58: 25-29.
- Güngör Ö, 2007. Meyve Suyu İlaveli Kefirin Depolama Süresince Özelliklerinin Belirlenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Irigoyen A, Arana I, Castiella M, Torre P, Ibanez FC, 2005. Microbiological, Physicochemical And Sensory Characteristics of Kefir During Storage. *Food Chemistry*, 90: 613-620.
- Jackobsen M, Narvhus J, 1996. Yeasts And Their Beneficial And Negative Effect On The Quality Of Dairy Products. *International Dairy Journal*, 6: 755-768.
- Kaçar A, 2002. Farklı Oranlarda Yağsız Kurumadde İçeren Enerjisi Azaltılmış Dondurmaların Fiziksel, Kimyasal Ve Duyusal Özellikleri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Kailasapathy K, 2002. Microencapsulation Of Probiotic Bacteria: Technology And Potential Applications. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 3, 39-48.
- Kalkan S. 2014. Farklı Antimikrobiyel Maddeler İçeren Yenilebilir Film Kaplamaların Macar Salamında Kullanım Olanakları Ve *Listeria İnnocua* İnaktivasyonu Üzerine Etkileri. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).

- Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H, 2006. Survival Of Probiotics Encapsulated İn Chitosan-Coated Alginate Beads İn Yoghurt From UHT- And Conventionally Treated Milk During Storage. *LWT-Food Science and Technology*, 39: 177–183.
- Kurt A, Çakmakçı S, Çağlar A, 2003. Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metodları Rehberi Genişletilmiş 8. Baskı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 252/D Erzurum-Türkiye.
- Lacroix C, Yildirim S, 2007. Fermentation Technologies For The Production Of Probiotics With High Viability And Functionality. *Current Opinion Biotechnology*, 18, 176–183.
- Mainville I, Robert N, Lee BH, Farnworth ER, 2006. Polyphasic Characterization Of The Lactic Acid Bacteria in Kefir. *Systematic and Applied Microbiology*, 29: 59-68.
- Malek AM, Dmytrow I, Jasinska M, 2009. Quality Of Kefir Produced Using Active Flora Probiotic. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 12(3): 5.
- Mandal S, Puniya AK, Singh K, 2006. Effect Of Alginate Concentrations On Survival Of Microencapsulated *Lactobacillus casei* NCDC-298. *International Dairy Journal*, 16: 1190–1195.
- Onaran B, Çufaoğlu G, 2007. Comparison Of Microbial Population Of Household And Commercial Kefirs in Ankara, Turkey. *Veteriner Hekim Dergisi*, 88(1): 52-58.
- Özen F, Çoşkun F, 2014. Bitkisel Ekstrakt Kullanımının Tekirdağ Köftesinin Mikrobiyolojik Ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(3): 100-109.
- Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, 2006. Efficacy Of Probiotics İn Prevention Of Acute Diarrhoea: A Meta-Analysis Of Masked, Randomized, Placebo-Controlled Trials. *Lancet Infectious Diseases*, 6: 374–82.
- Stanton C, Gardiner G, Lynch PB, Collins JK, Fitzgerald G, Ross RP, 1998. Probiotic Cheese. *International Dairy Journal*, 8: 491-496.
- Taş TK, İlay E, Öker A, 2014. Pekmez Ve Erik Kullanılarak Üretilen Kefirlerin Bazı Kalite Kriterlerinin Belirlenmesi. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknolojisi Dergisi*, 2(2): 86-91.
- TGK, 2009. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, Tebliğ No: 2009/25.
- Trigueros DEG, Fiorese ML, Kroumov AD, Hinterholz CL, Nadai BL, Assunc GM, 2016. Medium Optimization And Kinetics Modeling For The Fermentation Of Hydrolyzed Cheese Whey Permeate As A Substrate For *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *Biochemical Engineering Journal*, 110: 71–83.
- Ünal E, Erginkaya Z, 2010. Probiyotik Mikroorganizmaların Mikroenkapsülasyonu. *Gıda*, 35: 297-304.
- Ünlütürk A, Turantaş F, 1998. Gıda Mikrobiyolojisi. Mengi Tan Basımevi, İzmir-Türkiye.
- Wszolek M, Tamime AY, Muirs DD, Barclay MNI, 2001. Properties of Kefir Made in Scotland and Poland using Bovine, Caprine and Ovine Milk with Different Starter Cultures *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 34: 251-261.
- Yılmaz L, Yılsay TO, Bayazıt AA, 2006. The Sensory Characteristics Of Berry Flavoured Kefir. *Czech Journal Food Science*, 24: 26-32.