



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EV TİPİ VE ENDÜSTRİYEL TİP KEFİR ÖRNEKLERİNDE
DİNAMİK *İN VİTRO* GASTROİNTESTİNAL MODEL İLE
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN CANLILIKLARININ
BELİRLENMESİ**

MERVE İNCE PALAMUTOĞLU
DOKTORA TEZİ

BESLENME VE DİYETETİK ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Gizem Köse

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Murat Baş

İSTANBUL-2023



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EV TİPİ VE ENDÜSTRİYEL TİP KEFİR ÖRNEKLERİNDE
DİNAMİK *İN VİTRO* GASTROİNTESTİNAL MODEL İLE
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN CANLILIKLARININ
BELİRLENMESİ**

MERVE İNCE PALAMUTOĞLU
DOKTORA TEZİ

BESLENME VE DİYETETİK ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Gizem Köse

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Murat Baş

İSTANBUL-2023

Anabilim Dalı:

Beslenme ve Diyetetik

Program:

Beslenme ve Diyetetik Doktora

Tez Başlığı:

Ev Tipi ve Endüstriyel Tip Kefir Örneklerinde
Dinamik *In Vitro* Gastrointestinal Model ile
Laktik Asit Bakterilerinin Canlılıklarının
Belirlenmesi.

Öğrencinin Adı-Soyadı:

Merve İnce Palamutoğlu

Savunma Sınavı Tarihi:

/ /

Bu tez çalışması jürimiz tarafından Doktora Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye (Tez Danışmanı)

Üye

Üye

Üye

Üye

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

21.11.2023

Merve İnce Palamutoğlu

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Benim en büyük şansım olan, tezimin yürütülmesi konusunda bana yol gösteren, beni hep destekleyen Danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Gizem KÖSE'ye, tez çalışmam ve doktora eğitimimin her aşamasında desteğini her zaman yanımda hissettiğim ikinci danışman hocam Prof. Dr. Murat BAŞ'a çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Cemal KASNAK'a, manevi desteğini benden esirgemeyen Prof. Dr. Feyza Sevim ERDOĞMUŞ, Doç. Dr. K. Esen KARACA ÇELİK ve Öğr. Gör. Rumeysa BALI'ya, verilerin değerlendirilmesi esnasında bana yardımcı olan Dr. Abdullah ÇELİK'e teşekkür ederim.

Doktora eğitim dönemimin her aşamasında beni manevi olarak destekleyen canım ailem Makbule İNCE, Ferdiye PALAMUTOĞLU, N. Metin İNCE ve Kemal PALAMUTOĞLU'na, hayatımın her aşamasında yanımda olan, desteğini her zaman hissettiğim ablam Prof. Dr. Meltem İNCE YENİLMEZ'e sevgi ve saygılarımı sunarım.

Doktora eğitimim sürecinde büyüyen ve bana her koşulda uyum sağlayan miniklerim Toprak ve Irmak'ıma, o olmasaydı her şeyim yarım kalır dediğim, benim en büyük destekçim diğer yarım eşim Doç. Dr. Recep PALAMUTOĞLU'na en içten duygularıyla teşekkür ederim.

“TDK-2023-72” proje kodu ile tez projemi destekleyen ve tüm hususlarda bana yardımcı olan Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
RESİMLER LİSTESİ.....	xi
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ÖZET.....	1
ABSTRACT	2
1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2 GENEL BİLGİLER	8
2.1 Fermantasyon.....	8
2.2 Probiyotikler	10
2.3 Kefir	13
2.3.1 Kefirin tanımı ve tarihçesi	13
2.3.2 Kefirin özellikleri.....	15
2.3.2.1 Kefirin fiziksel özellikleri.....	15
2.3.2.2 Kefirin kimyasal özellikleri	16
2.3.2.3 Kefirin mikrobiyolojik özellikleri	18
2.3.3 Kefirin sağlık üzerine etkileri.....	22
2.3.4 Kefir üretim yöntemleri.....	24
2.3.5 Gastrointestinal sistem.....	28
2.3.5.1 Gastrointestinal sistemin işlevleri	30
2.3.5.2 Gastrointestinal sistem organları.....	31
2.3.5.2.1 Ağız, dil ve tükürük bezleri	31
2.3.5.2.2 Farenks (yutak) ve özefagus (yemek borusu)	31
2.3.5.2.3 Mide	32
2.3.5.2.4 İnce bağırsak.....	33
2.3.5.2.5 Kalın bağırsak.....	35
2.3.6 Dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal sistem	36
2.3.6.1 <i>In vitro</i> gastrointestinal model (TIM)	39
2.3.6.2 İnsan bağırsak mikrobiyal ekosisteminin simülatörü (SHIME®).....	40
2.3.6.3 Tasarlanmış mide ve ince bağırsak sistemi (ESIN)	41
2.3.6.4 <i>In vitro</i> dinamik sistem (DIDGI®)	42
2.3.6.5 Gastrointestinal sistem simülatörü (Simgi®).....	42
2.3.6.6 Dinamik mide modeli (DGM).....	44

2.3.6.7	İnsan mide simülatörü (HGS)	45
2.3.6.8	İnsan mide sindirim simülatörü (GDS)	45
2.3.6.9	Yapay mide sindirim sistemi (AGDS)	46
2.3.6.10	Yapay kolon (ARCOL)	47
2.3.6.11	Mini biyoreaktör dizisi (MBRA)	47
3	GEREÇ VE YÖNTEM	49
3.1	Araştırmanın Amacı ve Hipotezi.....	49
3.2	Materyal	49
3.2.1	Endüstriyel kefir örnekleri (EK).....	50
3.2.2	Starter kültür ile üretilen kefir örnekleri (SK).....	50
3.2.2.1	Starter kültür ile üretilen kefir örneklerinin hazırlanması.....	50
3.2.3	Kefir danesi ile üretilen kefir (KD).....	51
3.2.3.1	Kefir danesi ile üretilen kefir örneklerinin hazırlanması.....	51
3.3	Metot	51
3.3.1	Dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal sistem modelinin oluşturulması	51
3.3.2	Kimyasal analizler	54
3.3.2.1	Kuru madde miktarı tayini	54
3.3.2.2	Çözünür katı madde miktarı tayini	54
3.3.2.3	pH değerleri tayini.....	54
3.3.2.4	Toplam kül miktarı tayini	55
3.3.2.5	Titrasyon asitliği (% laktik asit) tayini.....	55
3.3.2.6	Yağ miktarı tayini	55
3.3.2.7	Protein miktarı tayini.....	55
3.3.2.8	DPPH radikal süpürme kapasitesi tayini.....	56
3.3.3	Mikrobiyolojik analizler	56
3.3.3.1	<i>Lactobacillus</i> ve <i>Lactococcus</i> sayımı	57
3.3.4	İstatistiksel analizler.....	58
4	BULGULAR	59
4.1	Kefir Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları.....	59
4.2	Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgelerinin DPPH Radikal Süpürme Kapasitesi Değerlerine Ait Ön Test – Son Test Karşılaştırma Sonuçları	60
4.3	Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgesi DPPH Radikal Süpürme Kapasitesi Fark Değerlerinin Karşılaştırma Sonuçları.....	64
4.4	Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgelerinin pH Değerlerine Ait Ön Test – Son Test Karşılaştırma Sonuçları.....	64
4.5	Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgesi pH fark Değerlerinin Karşılaştırma Sonuçları.....	69
4.6	Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgelerinin Canlı <i>Lactobacillus</i> Sayılarına Ait Ön Test – Son Test Karşılaştırma Sonuçları.....	71
4.7	Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgesi Canlı <i>Lactobacillus</i> Sayıları Fark Değerlerinin Karşılaştırma Sonuçları	74
4.8	Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgelerinin Canlı <i>Lactococcus</i> Sayılarına Ait Ön Test – Son Test Karşılaştırma Sonuçları.....	74

4.9 Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgesi Canlı <i>Lactococcus</i> Sayıları Fark Değerlerinin Karşılaştırma Sonuçları	79
5 TARTIŞMA.....	81
5.1 Kefirlerin pH Değerleri.....	82
5.2 Kefirlerin Titrasyon Asitliği Değerleri	83
5.3 Kefirlerin Kuru Madde Miktarı Değerleri	85
5.4 Kefirlerin Yağ Miktarı Değerleri.....	86
5.5 Kefirlerin Protein Miktarı Değerleri	88
5.6 Kefirlerin Kül Miktarı Değerleri	88
5.7 Kefirlerin DPPH Radikal Süpürme Kapasitesi Değerleri	89
5.8 Kefirlerin Canlı <i>Lactobacillus</i> ve <i>Lactococcus</i> Sayıları	90
6 SONUÇ	100
7 KAYNAKLAR.....	108
8 EKLER.....	117
EK 1. Laboratuvar Kullanımı İzin Belgesi.....	117
9 ÖZGEÇMİŞ	118

KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

AGDS	Yapay Mide Sindirim Sistemi
ARCOL	Yapay Kolon
Ca	Kalsiyum
CaCl₂	Kalsiyum Klorür
cm	Santimetre
DGM	Dinamik Mide Modeli
DIDGI®	<i>In Vitro</i> Dinamik Sistem
dk	Dakika
EK	Endüstriyel Kefir
ESIN	Tasarlanmış Mide ve İnce Bağırsak Sistemi
Fe	Demir
GDS	İnsan Mide Sindirim Simülatörü
GIS	Gastrointestinal Sistem
gr	Gram
GRAS	Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen
°C	Santigrat Derece
H₂SO₄	Sülfürik Asit
HCl	Hidroklorikasit
HGS	İnsan Mide Simülatörü
K	Potasyum
KCl	Potasyum Klorür
KD	Kefir Danesi ile Üretilen Kefir
kob	Koloni Oluşturan Birim
L	Litre
LAB	Laktik Asit Bakterileri
log	Logaritmik
Mg	Magnezyum
mL	Mililitre
mm	Milimetre
N₂	Azot

Na	Sodyum
NaCl	Sodyum Klorür
NaHC0₃	Sodyum Bikarbonat
NaOH	Sodyum Hidroksit
P	Fosfor
pH	Potansiyel Hidrojen
SHIME®	İnsan Bağırsak Mikrobiyal Ekosisteminin Simülatörü
Simgi®	Gastrointestinal Sistem Simülatörü
SK	Starter Kültür Kullanılarak Üretilen Kefir
TIM	<i>In Vitro</i> Gastrointestinal Model



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Endüstriyel kefirin üretim proses şeması.....	26
Şekil 2. Kefirin geleneksel üretim proses şeması.....	27
Şekil 3. Gastrointestinal sistem.....	29
Şekil 4. Besin temini ve çıkışları gözönüne alınan <i>in vitro</i> gastrointestinal modeller.....	39
Şekil 5. EK, SK, KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki DPPH radikal süpürme kapasitesi değerlerinin dağılımı.....	63
Şekil 6. EK, SK, KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki pH değerlerinin dağılımı.....	68
Şekil 7. EK, SK, KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki canlı <i>Lactobacillus</i> sayılarının (log kob/ml) dağılımı	73
Şekil 8. EK, SK, KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki canlı <i>Lactococcus</i> sayılarının (log kob/ml) dağılımı	77

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Kefir danesi.....	16
Resim 2. Dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal sistem model şeması	52
Resim 3. Dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal sistem model	54



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Kefirin kompozisyonu	17
Tablo 2. Kefirin ürün özellikleri	18
Tablo 3. Kefir daneleri ve kefir içeceklerinde bulunduğu bildirilen mikroorganizma türleri	20
Tablo 4. Kefir daneleri, kefir mayası ve kefir içeceğinin mikroflorası.....	22
Tablo 5. EK, SK ve KD kefir örneklerinin kimyasal analiz sonuçları.....	60
Tablo 6. EK, SK ve KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki DPPH radikal süpürme kapasitesi değerlerinin karşılaştırılması	62
Tablo 7. EK, SK ve KD kefir gruplarının ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerinde DPPH radikal süpürme kapasitesi fark değerlerinin karşılaştırılması	65
Tablo 8. EK, SK ve KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki pH değerlerinin karşılaştırılması	67
Tablo 9. EK, SK ve KD kefir gruplarının ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerinde pH fark değerlerinin karşılaştırılması.....	70
Tablo 10. EK, SK ve KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki canlı <i>Lactobacillus</i> sayılarının (log kob/mL) karşılaştırılması	72
Tablo 11. EK, SK ve KD kefir gruplarının ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerinde canlı <i>Lactobacillus</i> sayıları (log kob/mL) fark değerlerinin karşılaştırılması.....	75
Tablo 12. EK, SK ve KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki canlı <i>Lactococcus</i> sayılarının (log kob/mL) karşılaştırılması	76
Tablo 13. EK, SK ve KD kefir gruplarının ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerinde canlı <i>Lactococcus</i> sayıları (log kob/mL) fark değerlerinin karşılaştırılması	80

ÖZET

Ev Tipi ve Endüstriyel Tip Kefir Örneklerinde Dinamik *In Vitro* Gastrointestinal Model ile Laktik Asit Bakterilerinin Canlılıklarının Belirlenmesi

Çalışmada, endüstriyel kefir (EK), starter kültür ile üretilen kefir (SK) ve kefir daneleri ile üretilen kefir (KD) örneklerinde fiziko-kimyasal analizler ve dinamik *in vitro* gastrointestinal model geçiş süreçlerinde de mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir. Kefir örneklerinin ağız 0. ve 2. dk ile mide 0. dk DPPH radikal süpürme değerleri arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamakla ($p>0,05$) beraber, mide 60 ve 120. dk'lar ile ince bağırsak 0, 60 ve 120. dk'lar arasındaki fark önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Çalışmada gastrointestinal sistemin farklı (ağız, mide ve ince bağırsak) bölgelerinde EK, SK ve KD kefir grupları arasında canlı *Lactobacillus* sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Canlı *Lactobacillus* sayıları açısından ağız bölgesinde başlangıç (0. dk) ile 2. dk arasında ($T=3,968$; $p<0,05$) ve mide bölgesinde 0., 60. ile 120. dk arasında ($R=11,146$; $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Canlı *Lactococcus* sayısı açısından EK gruplarının mide bölgesi 0., 60. ve 120. dk'lar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($R=10,236$; $p<0,05$). Dikkat çeken bir diğer bulgu ise KD grubunda canlı *Lactococcus* sayısının ağız bölgesinde 0. dk ile 2. dk'lar arasında ($T=3,101$; $p<0,05$) ve mide bölgesi 0., 60. ve 120. dk'lar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermesidir ($R=25,771$; $p<0,001$). Bulgular, farklı kefir türlerinin fiziko-kimyasal özellikleri arasındaki farkı vurgulamaktadır. Ayrıca dinamik *in vitro* gastrointestinal sistem boyunca kefir örneklerinde canlı laktik asit bakterilerinin sayısında azalma gözlenmiştir. Bu çalışma probiyotik ürünlerin tüketimi ile kolona ulaşması gereken canlı mikroorganizma sayısının sağlanması bakımından fermente ürünlerin üretiminde kullanılacak starter kültür miktarının belirlenmesinde sindirim sürecinin dikkate alınmasının önemini ortaya koymaktadır.

Anahtar Sözcükler: Kefir, Dinamik *in vitro* gastrointestinal model, Laktik asit bakterileri, Probiyotikler, Fermantasyon.

ABSTRACT

Determination of Viability of Lactic Acid Bacteria by Dynamic *In Vitro* Gastrointestinal Model in Household and Industrial-Type Kefir Samples

The study featured microbiological analyzes of dynamic *in vitro* gastrointestinal model transition processes of kefir samples as well as physico-chemical analyzes of industrial kefir (EK), kefir (SK) made with starter culture, and kefir (KD) produced with kefir grains. Although the difference in DPPH radical scavenging values of kefir samples at 0 and 2 minutes in the mouth and 0 minutes in the stomach was not statistically significant ($p>0.05$), the difference between 60 and 120 minutes in the stomach and 0, 60 and 120 minutes in the small intestine was found statistically significant ($p<0.05$). In the study, no statistically significant ($p>0.05$) difference in viable *Lactobacillus* counts was identified in different sections of the gastrointestinal tract (mouth, stomach, and small intestine) between the EK, SK, and KD kefir groups. There were significant differences found in viable *Lactobacillus* counts between the beginning (0th minute) and 2nd minute in the mouth section ($T=3.968$; $p<0.05$) and between the 0th, 60th, and 120th minutes in the stomach section ($R=11.146$; $p<0.05$). In terms of the number of viable *Lactococcus* counts, significant differences were found between the 0th, 60th, and 120th minutes in the stomach region of the EK groups ($R=10.236$; $p<0.05$). Another remarkable observation in the KD group showed a statistically significant difference in the count of viable *Lactococcus* between 0 and 2 minutes in the mouth section ($T=3,101$; $p<0,05$) and between 0, 60, and 120 minutes in the stomach sectionn ($R=25,771$; $p<0,001$). The findings highlight the difference between the physico-chemical properties of different types of kefir. This study shows the importance of considering the digestive process when determining the amount of starter culture to be used in the production of fermented products to ensure the viable microorganism counts that must reach the colon with probiotic product consumption.

Keywords: Kefir, Dynamic *in vitro* gastrointestinal model, Lactic acid bacteria, Probiotics, Fermentation.

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Beslenmenin sağlık üzerindeki etkisine dair farkındalık gün geçtikçe artmakta ve bu nedenle normal beslenmeye ek olarak fonksiyonel ürünlerin tüketiminin hastalıkları önlemeye veya bunlarla baş etmeye yardımcı olan ek faydalar sağladıkları düşüncesiyle tüketilmeleri gerektiği savunulmaktadır (1). Besinlerin sindirimi; besin alımını, yapı taşlarına parçalanmasını, temel birimlerin emilmesini, ilgili organlara taşınmasını ve kalan atıkların atılmasını sağlayan çok yönlü ve çok ölçekli fiziko-kimyasal süreçlerin karmaşık bir bileşimidir. İnsan sindirim sistemi, sinir ağı ve hormonlar tarafından kontrol edilen yardımcı organlardan oluşur (2). Sindirim sisteminin toplam uzunluğu yaklaşık 9 m'dir. Ağızda başlayan sindirim sistemi, yutak, yemek borusu, mide, ince bağırsak, kalın bağırsak olarak devam eder ve rektum, atıkların atıldığı anüs ile sonlanır. Dişler, dil, tükürük bezleri, karaciğer, safra kesesi ve pankreas yardımcı organlardır. Sindirim sisteminin temel işlevi, tüketilen besinlerin vücut hücrelerinin işlevlerini yerine getirebilmeleri için kullanabileceği bir forma dönüştürmektir (3).

Son 50 yıl içinde inflamatuvar bağırsak hastalıkları, otoimmün hastalıklar, alerjik hastalıklar, diyabet gibi hastalıkların görülme sıklığının artması sebebiyle bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler gündeme gelmiştir. Yapılan çalışmalarda, gastrointestinal kanalın yararlı bakteriler ile kolonize edilmesi sağlanarak hastalık riskin azaltılabileceğini tespit edilmiştir (4). Probiyotik bakterilerin kullanılarak üretilen besinler, fonksiyonel ürün kategorisinde yer almakta olup ürün pazarının %60'ından fazlasını oluşturmaktadır. Probiyotik süt ürünleri bu ürün pazarında büyük bir paya sahiptir (5).

Probiyotik terimi Yunanca'dan türetilmiştir ve "yaşama karşı" anlamına gelen antibiyotiklerin aksine "yaşam için" anlamına gelmektedir. Probiyotiklerin tarihi fermente besinlerin tüketimi ile başlamıştır. Probiyotik terimi ilk kez 1954'te Vergio tarafından ortaya atılmıştır (6). Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) yakın zamanda probiyotikleri, "yeterli sayıda tüketildiğinde konakçının gastrointestinal sistemine faydalı bir sağlık etkisi sağlayan canlı

mikroorganizmalar” olarak tanımlamıştır (7–9). Bu faydaların sağlanabilmesi için probiyotik bakterilerin bağırsaklara ulaştıklarında g veya mL başına minimum 10^6 koloni oluşturan birim (kob/g, kob/mL) düzeyinde olması gerekmektedir. Üretim, depolama ve gastrointestinal sistemden geçişi sırasındaki çeşitli stres faktörleri, probiyotik bakterilerin canlılıkları için risk faktörüdür (9). Bağırsak mikrobiyotası, birçok konakçı hastalığında yaygın olarak yer almıştır. Probiyotiklerin, diyetle yeterli miktarlarda alınmasının, insan sağlığı için bağırsak mikrobiyotasını modüle etmekte en önemli stratejilerden biri olduğu kabul edilmiştir (8). İnsan sağlığı üzerine yararlı etkilerinden dolayı en yaygın kullanılan probiyotik bakterileri arasında *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri bulunmaktadır. Bununla birlikte, *Saccharomyces boulardii* ve *Saccharomyces cerevisia* gibi mayalar da yararlı etkileri nedeniyle probiyotik olarak kullanılır. Probiyotikler ilaç olmamakla beraber son yıllarda probiyotik pazarı çarpıcı biçimde artmıştır (7). Probiyotiklerin vücutta yer alan belirli işlevleri modüle etme yeteneği, günümüzde besin, içecek ve besin takviyelerinin üretiminde yaygın olarak kullanılmasına neden olmuştur. Bununla birlikte, bu pazarda, içerdiği mikroorganizmaların tanımlanması ve canlılıkları açısından, mikrobiyolojik kalitesi düşük probiyotik formülasyonlara ilişkin ürünlere ait raporlarla sıklıkla karşılaşmaktadır. Bu niteliksel kusurlar, üreticilerin yetersiz kalite kontrollerinin yanı sıra araştırmacılar tarafından yetersiz veya yeterince titiz olmayan metodolojilerin uygulanmasının sonucu olabilir. Probiyotik ürünlerin kalite kontrolü, Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği’nin ticarileştirilmiş probiyotik ürünlerin daha sıkı kontrolünün önemini vurguladığı dünya çapında çok sayıda organizasyonun odak noktasıdır. Bu nedenle, etikette belirtilenler ile formülasyonda bulunanlar arasındaki niteliksel ve niceliksel uygunluk, mevcut ve yeni probiyotik formülasyonlar tarafından yerine getirilmesi gereken temel bir gerekliliktir. Aslında, Birleşmiş Milletler FAO, DSÖ, Uluslararası Probiyotikler Derneği ve Sorumlu Beslenme Konseyi’nin probiyotikler için yönergelerine göre ürün etiketleri, raf ömrünün sonuna kadar minimum canlı hücre miktarını ve içerdiği her bir mikroorganizmanın kimliğini belirtmelidir. Yeterli miktarda canlı organizma ile probiyotik preparatların uygulanması, istenen yararlı sağlık etkisinin elde edilmesi için çok önemlidir. Bu miktar, tüm ürünler için evrensel olarak belirlenmemiştir, ancak içerdiği türlerin ve suşların stabilitesine bağlı olup *in vitro* ve *in vivo* test

sonuçları ile belirlenir. Konağın sağlığı üzerinde yararlı etkilerini göstermek için, oral yoldan verilen probiyotiklerin, gastrointestinal sistemden zarar görmeden geçmeleri ve bağırsakları geçici olarak kolonize etmeleri gerekmektedir. Bu nedenle, *in vitro* testler kullanılarak asit ve safra toleransının değerlendirilmesi, probiyotik mikroorganizmaların probiyotik ürünlere dâhil edilmeden önce seçilmesinde kullanılan kriterler arasındadır. Ek olarak, mikroorganizmaların kapsüllenmesi, mikroorganizmaları gastrointestinal sistemden geçişleri sırasında korumak için üreticiler tarafından yaygın olarak benimsenen bir prosedürdür (10). Bağırsaklara sağlam şekilde ulaşmaları, mide suyu ve safra tuzlarına dirençli olmaları konakçıya yararlı aktivitelerini gerçekleştirebilmeleri için önemlidir. Kalın bağırsak çoğu probiyotik bakterinin etki bölgesidir ve etkili olabilmesi için bakterilerin yeterli sayıda canlı olarak ulaşması, en az 10^6 kob/g canlı probiyotik bakteri içermesi gerekmektedir. Tüm gastrointestinal sistem boyunca kayıplar meydana gelebilir, ancak midenin asidik ortamı ve duodenumda safra varlığı probiyotik bakterilerin canlılığını etkileyen ana faktörlerdir. Probiyotiklerin üretim ve raf ömrü süresince canlı kalması ve ürünün ambalaj türü ve oksijen geçirgenliği de dikkate alınması gereken bir diğer faktördür. İn vivo çalışmalar, potansiyel probiyotik bakterileri seçmek ve besin matrislerindeki davranışlarını incelemek için gereken ilk tarama deneylerinde kullanılmak için çok karmaşıktır (11).

Probiyotik mikroorganizma içeren ve kompleks bir yapıya sahip olan kefir, bu ürünler arasında en ilgi çekici içecektir (12). Kefir, Kafkas dağlarında görülen ekşi, asidik, hafif alkollü fermente bir süt ürünüdür (13). Kefir, geleneksel veya ticari yarım yağlı veya yağsız sütün (keçi, inek, koyun ve deve sütü) kefir partikülleri ile fermentasyonu sonucu üretilmektedir (12). Geleneksel kefir üretimi için pastörize süte kefir danelerinin ilave edilmesi ve oda sıcaklığında yaklaşık bir gün fermentasyona bırakılmasıyla gerekmektedir. Kefir oluştuktan sonra kefir daneleri süzülür ve fermente süttten ayrılmaktadır (14). Kefir, kolay sindirilebilirliği ile bilinmekte olup, besin değeri daha yüksektir. Kefir mikroflorasının bileşimi kefir danesinin cinsine, kültür ortamına ve üretim yöntemine göre değişmektedir. Sütün türü ve miktarı ile maya ve laktik asit bakterileri arasındaki karmaşık etkileşimler, kefirin duyusal ve dokusal özelliklerini etkileyebilmektedir (15). Kefirdeki laktik asit

bakterileri, fermentasyonu başlatmaya yardımcı olmak için süte eklenir. Bu mikroorganizmalar laktozdan laktik asit üretir ve pH seviyesini düşürür. Laktik asit bakterileri, fermente sütün tat ve uzun raf ömrü gibi bazı temel özelliklerinden sorumludur (12). Kefir daneciklerinin mikroflorasındaki çeşitlilik, tür ve popülasyon sayısı, kullanılan sütün biyokimyasal özellikleri ve mikrobiyolojik profili veya üretim yöntemine bağlı olarak renk, tat, koku ve son ürünün kimyasal veya mikrobiyal içeriği değişiklik gösterebilir (16). Kefir, antimikrobiyal, antihipertansif, antikanserojen, hipokolesterolemik, antiinflamatuvar, antialerjenik, antibakteriyel, antioksidan ve probiyotik etkilerinin yanı sıra hoş organoleptik özelliklere sahip olması nedeniyle son yıllarda ilgi odağı olmuştur.

Sağlık yararı için sindirim ve emilim davranışlarını optimize etmek üzere besinlerin matrisini ve yapısal özelliklerini değiştirmeye yönelik artan ilgi, sindirim sisteminde birçok besin sindirim çalışması uygulamalarını gerektirir (2). Gastrointestinal sistem koşullarında mikroorganizma canlılıklarının belirlenebilmesine yönelik güvenilir ve doğru verileri elde etmek için en ideali araştırmalar *in vivo* çalışmalardır. Bununla birlikte, insan üzerinde yapılan klinik çalışmalar teknik, finansal ve etik olarak uygulanabilirliği sorgulanmakta olup, bireysel farklılıklar nedeniyle tekrarlanabilirlikleri düşük seviyede olduğundan zordur (17). Araştırmalarda kullanılan hayvanların mide-bağırsak sisteminin içeriğine erişmek için kanüllerin sindirim organına yerleştirildiği veya ölümünü sağlamak üzere cerrahi yaklaşımlar içermesi sebebiyle mümkün olduğunca kaçınılmaktadır (18). İnsan ve/veya hayvanlar üzerinde yapılan sindirim sistemi çalışmalarında meydana gelen karmaşık süreçler, çalışmaların teknik olarak zor ve maliyetli olmasına, ayrıca karşılaşılan etik kısıtlamalar nedeniyle *in vivo* çalışmaların gerçekleştirilmesinde zorluklara neden olmaktadır (19). Bu sonuçlar araştırmacıları, sindirim süresi ve pH değerleri gibi çeşitli faktörleri göz önünde bulunduran ve sindirim enzimlerini içeren mide ve bağırsak aşamaları ile insan gastrointestinal sistemini yakından taklit edebilen güvenilir *in vitro* modeller tasarlamaya ve kullanmaya yöneltmiştir. *In vitro* sistem modeller esnek, doğru ve tekrarlanabilir olması sebebiyle, insan ve hayvan modellerine faydalı bir alternatif sunmaktadır (20).

Probiyotik mikroorganizmaların insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerine yönelik yurütulen birçok araştırma, bu mikroorganizmaların gastrointestinal sistem boyunca canlı kalabilmelerine yöneliktir. *İn vitro* gastrointestinal modeller, dinamik ve statik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Statik modellerde besin maddeleri sindirimin gerçekteştiği işlemlere maruz bırakılmaktadır. Sindirim sisteminde zamana bağlı olarak değişen parametreler (pH, enzim düzeyi, örnek miktarı vb.) dikkate alınmamaktadır. Dinamik modellerde ise hem fiziksel hem de mekaniksel işlemlerle zamana bağlı olarak değişen parametreler sindirim esnasında simüle edilmektedir (19). Dinamik modeller farklı besin ve ilaçların sindirimini simüle etmek için uygun bulunmuştur (18). Bu modeller koni, huni veya silindirik şeklindeki cihazla insan gastrointestinal sistemini simüle etmek için tasarlanmıştır ve bilgisayar kontrollüdür. Besinlere uygulanan mekanik kuvvetler ise ritmik peristaltik kasılmalar ile sağlanmaktadır (17). Yapılacak olan çalışmanın amacına göre, simüle edilmiş sindirim modelleri ağız, mide ve ince bağırsak aşamaları ile kalın bağırsak fermantasyon bölümlerinden oluşabilmektedir. Her aşama vücut sıcaklığında belli bir süre simüle edilmiş yapay ağız, mide ve ince bağırsak sindirim sıvıları ile muamele edilirken, pH tampon çözeltiler ile sabit değerde kalması sağlanmaktadır (21).

Çalışmada; ev tipi ve endüstriyel tip kefirlerin sahip oldukları başlangıç probiyotik karakterli canlı laktik asit bakterilerinin sayısının tespit edilerek simüle gastrointestinal sistem boyunca canlılık durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Fermantasyon

Besinlere uygulanan fermantasyon işlemi ilk çağlardan beri devam etmekte olup, arkeolojik kanıtlarla tespit edilmiştir. Zamanla, birçok fermente besinin, fermente edilmemiş eşdeğerlerine kıyasla daha uzun saklama ömrüne sahip olduğu ve besin değerlerinin daha iyi olduğu anlaşılmıştır. Bu avantajları sayesinde bu besin işleme biçimini daha popüler hale gelmiştir. Sebze, meyve, et, balık ve tahıl gibi birçok besinin fermantasyon yoluyla arzu edilen ürünlere dönüştürüldüğü ve bugün hala dünya çapında tüketildiği görülmektedir (22). Orta Asya'ya uzanan Türk beslenme kültüründe, yerleşik hayata geçişle birlikte çok çeşitli farklı yiyecekler üretilmeye başlanmış ve geleneksel Türk beslenme kültürü şekillenmiştir. Geleneksel üretim yöntemlerinin en önemlilerinden biri de besin fermantasyonu tekniğidir (23). Fermantasyon işlemi besinlerin tadını, lezzetini, besin değerini, yapısını ve raf ömrünü arttırdığından insan beslenmesinde önemli yere sahiptir. Gelişmemiş ülkelere kadar tüm toplumlar da güvenle tüketilmektedir (24-26).

Fermente ürünler, sindirilebilirliği arttırdığı ve esansiyel amino asitleri ve vitamin içeriğini doğal olarak fermente edilmemiş besinlere göre arttırdığı için besin değeri açısından üstündür (27). Ayrıca fermantasyonla oluşan metabolitlerin besinlerin bozulmasına neden olduğu ve birçok patojen mikroorganizmayı önlediği ve/veya yok ettiği düşünüldüğünden bu besinler güvenli besinler olarak tanımlanmaktadır (25). Besinlerdeki fermantasyon işlemleri aynı zamanda tüketicilere zengin besinsel özelliklere ve tatlara sahip ürünler sunmaktadır. Süreci enerji ve ürün kalitesiyle ilişkilendirerek doğal fermantasyon süreçlerini, mikroorganizmaların çeşitliliğini ve özelliklerini keşfetmek olan çalışmalara ilgi artmıştır (28). Canlı mikroorganizmalar içeren fermente besinlerin tüketimi, insan sağlığını iyileştirmeye yönelik önemli bir beslenme stratejisi olarak düşünülmektedir (29). Fermantasyonlarda yaygın olarak görülen mikroorganizma grupları bakteri, maya ve küflerdir. Besinlerin fermantasyonunda en önemli bakteriler, karbonhidratlardan laktik asit üreten *Lactobacillaceae* familyasına ait bakterilerdir.

Diğer önemli bakteriler, asetik asit üreten *Acetobacter* (esas olarak meyve ve sebzelerin fermantasyonundan) ve *Bacillus*'tur (baklagillerin fermantasyonundan). İstenilen besin fermantasyonu için yararlı olan maya, *Saccharomyces* ailesinden, özellikle *S. cerevisiae*'dir (30–32). Fermente ürünlerdeki en yaygın bakteriler, laktik asit bakterileridir ve mikrobiyal dönüşümlerin çoğundan birincil olarak sorumludur. Birçoğu genellikle güvenli olarak tanımlanan (GRAS - Generally Recognized as Safe) mikroorganizmalar şeklinde kabul edilmektedir (33).

Fermente yiyecek ve içeceklerin modern büyük ölçekli üretimi için, geleneksel olarak kullanılan belirtilmemiş suş karışımının yerini alan tanımlanmış suş starter kültürlerin kullanımına bağlıdır. Tanımlanmış suşlara geçiş hem kültür performansının hem de ürün kalitesi ve istikrarının sağlandığı anlamına gelmektedir (28). Fermantasyon yoluyla yiyecek ve/veya içecek üretiminde her zaman canlı mikroorganizmalar kullanılmamaktadır. Maya, ekmek, bira, şarap ve damıtılmış alkollü içeceklerin fermantasyonu için gereklidir. Birçok fermente ürün, besinlerin raf ömrünü uzatmak amacıyla fermantasyon sonrası ısıl işleme tabi tutulmaktadır. Bu sebeple sosisler genellikle fermantasyon sonrası pişirilmekte, soya sosu, lahana turşusu gibi fermente sebzelere ise ısıl işlem uygulanmaktadır. Isıl işlem görmemiş fermente besinler bile elverişsiz çevre koşulları nedeniyle zamanla mikrobiyal popülasyonları azalabilmektedir. Ancak nihai üründe canlı mikroorganizmaların varlığının olumlu fonksiyonel rolü engellemediğini belirtmek önemlidir (26).

Türk Gıda Kodeksi'nde (2009), fermente süt ürünü, düşük pH'a sahip sütün uygun mikroorganizmaların fermantasyonu ile pıhtılaşması sonucu oluşan ve ısıl işlem görmediği sürece belirli mikroorganizmaları aktif tutan ürün olarak tanımlanmaktadır (34). Süt bazlı fermente ürünlerin çoğu laktik asit bakterilerinin fermantasyonu ile üretilmekte olup Gram (+) bakteri grubundan *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Streptococcus* ve *Pediococcus* gibi türler kullanılmaktadır (33). Laktik asit bakterileri, antimikrobiyal bakteriyosinlerin salınımını arttırırken, bozulmaya ve asitleşmeye neden olan patojenlerin ve mikroorganizmaların çoğalmasını da önler (33,35). Bu durumun insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerinden bazıları arasında anti-kanserojen ve hipokolesterolemik etkilerin yanı

sıra bağırsak mikrobiyotasının değiştirilmesi, inflamatuvar bağırsak hastalığının önlenmesi ve tedavisi yer almaktadır. Ayrıca süt şekeri olan laktozun laktik asite dönüşmesi, laktik asit bakterilerinin süt fermantasyonu sırasında meydana getirdiği önemli değişikliklerden biridir ve laktoz intoleransı olan bireylerde karın ağrısı ve ishali hafifleterek sağlık açısından fayda sağlamaktadır. Bu nedenle fermente süt ürünlerinin, bağırsak mikrobiyotasını ve bağışıklık tepkisini modüle etmek ve kişinin hipertansiyon, diyabet ve yüksek kolesterol riskini azaltmak gibi çeşitli sağlık yararları bulunmaktadır (35).

Çeşitli hayvanların sütünden elde edilen fermente süt ürünleri Türkiye’de olduğu gibi dünyada da en yaygın fermente besinler içerisinde yer almaktadır. Farklı ülkelerde isimi farklı olsa da yoğurt, tüketicilerin aşina olduğu bir fermente üründür (36). Ülkemizde geleneksel ve ticari olarak üretilen fermente süt ürünlerine örnek olarak yoğurt, torba (kese) yoğurdu, ayran, kımız ve kefir verilebilir (37). Kefir yoğurttan daha az biliniyor; ancak bileşiminin analizi, ona benzersiz sağlık yararları sağlayan biyoaktif bileşenler içerebileceğini göstermektedir, bu da kefirin önemli bir probiyotik ürün olabileceği anlamına gelmektedir (36).

2.2 Probiyotikler

Tüketicilerin sağlığa ve sağlıklı yaşama olan ilgisinin artması, temel beslenme ihtiyaçlarının karşılanmasının ötesinde ek bir fizyolojik fayda sağlayan, fonksiyonel besinler olarak adlandırılan belirli besinlerin veya besin bileşenlerinin sayısında artışa neden olmuştur (38). Fonksiyonel besinler ve bunların vitamin, mineral, lipid, probiyotik ve prebiyotikler gibi biyoaktif bileşenleri insanlarda yaşam kalitesini artırmak ve hastalık riskini azaltmak için pazarlanmaktadır. Sağlık açısından birçok faydaya atfedildiği için probiyotik suşlarının farklı besin ürünlerine dâhil edilmesine ilişkin yaklaşımlar yıllar içinde giderek artmış ve dolayısıyla pazar payı ve üretimde de artış olmuştur (39).

Probiyotikler ilk kez, doğal olarak fermente edilmiş gıda ürünlerindeki geleneksel kullanımlarla ilişkilendirilmiştir (40). 1864 yılında bilim adamı Pasteur

tarafından gıdaların fermantasyonunun mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirildiği keşfedilmiştir (41). 1905 yılında Bulgar Doktor Grigoroff, yoğurdun fermantasyon yoluyla oluşmasını sağlayan mikroorganizmanın basil olduğunu bulmuş ve bu mikroorganizmaya *Lactobacillus bulgaricus* adı verilmiştir (42). Nobel ödüllü bilim adamı Elie Metchnikoff, 1907 yılında yazdığı “Hayatın Uzaması” adlı kitabında Bulgarların uzun ömürlülüğünün yoğurta bulunan *Lactobacillus*’tan kaynaklandığı hipotezini öne sürmüştür (43). Lilly ve Stillwell (1965), bir organizma tarafından salgılanan ve diğer organizmanın büyümesini uyaran maddeleri tanımlamak için “probiyotik” terimini kullanmışlardır (44).

Lactobacillus ve *Bifidobacterium* türleri en yaygın kullanılan probiyotiklerdir (40). “Probiyotik” terimi, probiyotik ilaçlar (tıbbi ürünler – insan kullanımına yönelik canlı biyoterapötik ürünler), probiyotik besinler (örn. besinler, besin bileşenleri, besin takviyeleri veya özel tıbbi amaçlı besinler), doğrudan beslenen mikroorganizmalar (hayvan kullanımı için) ve genetiği değiştirilmiş probiyotik ürünlerini ifade etmektedir (45). Probiyotikler ticari olarak toz poşetler halinde, sıvı formda, kapsül veya tablet formunda olabildiği gibi, yoğurt ve beslenme barları gibi spesifik besinlerde de mevcuttur (46). Probiyotik takviyesinin yararlı etkisi büyük ölçüde suşa, doza, süreye, form ve konakçı fizyolojisinin yanı sıra hedef popülasyon ve ilgilenilen sonuca bağlıdır. Bu nedenle, probiyotiklere yönelik önerilerde tüm bu faktörler dikkate alınmalı ve spesifik çalışmalardan elde edilen faydalar, tüm probiyotik ürünler için genel sonuçlara yol açmamalıdır (46). Probiyotiklerin yararlı etkileri yalnızca doza bağlı değil, aynı zamanda türede özgüdür (47).

Probiyotikler laktoz intoleransı, kanser, alerjiler, hepatit, *Helicobacter pylori* enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, hiperlipidemi, kolesterol asimilasyonu ve antibiyotiklerle ilişkili gastrointestinal problemlerde yararlı bir rol oynayabilmektedir. Ayrıca probiyotikler bağırsak pH’ını azaltıp, K vitamini, folik asit, B grubu vitaminleri, kısa zincirli yağ asitleri ve diğer postbiyotiklerin sentezini artırabilmektedir. Bu faydalı etkiler, konakçı ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki simbiyotik ilişkinin sonucu olabilmektedir. Bağırsak mikrobiyotası, parçalanma nedeniyle laktat ve kısa zincirli yağ asitleri gibi organik asitlerin üretimi yoluyla pH’ı

düşürerek bağırsak sağlığının düzenlenmesine, enfeksiyonlara karşı direncin artmasına ve konak bağışıklık sisteminin farklılaşmasına katkıda bulunacaktır (39). Günümüzde probiyotiklerin yalnızca gıda işlemeyi kolaylaştırmakla kalmayıp aynı zamanda insanlara sağlık açısından faydalar sağladığı da bulunmuştur (48). Ayrıca probiyotikler yalnızca yoğun tıbbi araştırmaların konusu değil, aynı zamanda milyarlarca dolarlık küresel endüstrinin de kaynağı haline gelmiştir (49). Günümüzde probiyotik ürünler toplam fonksiyonel gıda pazarının %60 ila %70'ini oluşturmaktadır (38). Probiyotiklerin dünya çapında yıllık pazar büyümesi %7'dir ve 2024'te 65 milyar dolara ulaşması beklenmektedir (45).

Probiyotiklerin güvenliğini değerlendirmek önemlidir, ancak daha önce çeşitli konuların dikkate alınması gerekmektedir. Probiyotik ürünlerin güvenliğinin değerlendirilmesinde göz önünde bulundurulması gereken faktörler; enfektivite, patojenite, duyarlı bireylerde aşırı bağışıklık uyarımı, toksisiteyi içeren virülans faktörleri, metabolik aktivite ve mikropların önemli özelliklerini içermeleridir (42, 48). Probiyotik organizmaların güvenliği ile ilgili endişeler genel olarak probiyotik türü, ürün kalitesi veya probiyotik uygulamasına ilişkindir. Herhangi bir probiyotik suşunun güvenliğini değerlendirmenin temeli tam bir genom dizisidir. Bu, türün belirli bir taksonomik gruba atanmasına olanak tanıyarak türle ilgili yayınlanmış risklerin gözden geçirilmesine olanak tanımaktadır. Tam bir genom dizisi aynı zamanda suş seviyesinin tanımlanmasına da olanak tanır; bu, üretim sırasında suşun izlenmesi ve şüpheli enfeksiyonların etiyolojisinin araştırılması açısından önemli olabilmektedir. Probiyotik ürünlerin formülasyonuna ilişkin güvenlikle ilgili konular arasında saflığın, etki gücünün (dağıtılan canlı mikroorganizma miktarı) ve nihai ürünün bileşiminin belirlenmesi ihtiyacı yer almaktadır (40). Probiyotikli ürünlerin üretim aşamaları probiyotik mikroorganizmaların canlılığını ve stabilitesini etkilemektedir. Mikroorganizmaların işleme, depolama, taşıma ve raf ömrü sırasında da hayatta kalması gerekmektedir (38).

Dünyanın her yerinde çoğu probiyotik ürün süt bazlıdır. Probiyotikler, prebiyotikler, lifler, polifenoller vb. ile zenginleştirilmiş süt veya süt bazlı içecekler ilk ticarileşen probiyotik ürünlerdir ve hala ön sıralarda yer almaktadır. Süt ürünleri

ve süt yağının tamponlama kapasitesi, mikroorganizmaların stres koşullarına doğrudan maruz kalmalarını azaltarak probiyotikleri koruyabilir, sert mide-bağırsak koşullarını tolere etmede süt ürünü olmayan taşıyıcı gıdalara göre avantajlı olarak kabul edilmektedir (39). Tüketicilerin artan sağlık bilinci ve sağlıkla ilgili bazı konular, süt bazlı olmayan ürünlerinde keşfedilmesine yol açmıştır. Örneğin bitki bazlı alternatif yoğurtlar giderek artan sayıda geliştirilmekte ve pazarlanmaktadır (50). Ayrıca meyve suları, temel besin maddeleri (mineraller, vitaminler, diyet lifleri, fenolik bileşikler ve fitokimyasallar) ve şekerler açısından zengin olduğundan probiyotik bakteriler için süt ürünü olmayan taşıyıcı gıdalar olarak önerilmektedir. Bununla birlikte, herhangi bir fonksiyonel probiyotik gıda için temel başarı ve tercih edilebilirlik kriterleri, canlılık ve duyuasal özellikleri korumak olduğundan, meyve bazlı matrislerdeki probiyotiklerin raf ömrünün sonuna kadar hayatta kalması, süt ürünlerinde bulunanlardan daha karmaşık ve zordur (39). Meyve ve sebze kökenli süt ürünü olmayan probiyotik ürünler çok nadirdir (50).

2.3 Kefir

2.3.1 Kefirin tanımı ve tarihçesi

Kefir, Kafkas dağlarında görülen ekşi, asidik, hafif alkollü fermente bir süt ürünüdür (13). Kefir kelimesi, içtikten sonra alınan hazzı belirtmek için Türkçede “iyi hissetmek” anlamına gelen “keyif” kelimesinden gelmektedir (12,51). Kefir, Kefyr, Kephir, Kefer, Kiaphur, Knapon, Kevi ve Kippi adlarıyla da bilinmektedir (52). Kafkasyalı obanlar Kefir’i, sütün fermente olup efervesan ve iştah açıcı bir ieeğe dönüşeceği sırada sütü deri keselerde taşırken keşfetmiştir (53).

Kefir danesinin nasıl üretilebileceği konusunda ilk prensiplerden bilgi eksikliği bulunmaktadır. Bir raporda, keçi derisinden bir torbaya koyunun bağırsak florasının aşılanması ve ardından torbanın pastörize sütle doldurulması yoluyla kefir benzeri danelerin üretiminin yapıldığı ifade edilmiştir. Torba, içeriğin saatlik alkalanmasıyla 24-26 °C’de 48 saat süreyle inkübe edilmiş, süt pıhtılaştığında yaklaşık %75’i çıkarılmış ve yerine taze süt eklenmiştir. Bu işlem 12 hafta boyunca

tekrarlanmıştır. Sonuçta torbanın iç yüzeyinde bir polisakarit tabakasının geliştiği görülmüştür. Bu tabaka çıkarılıp süte eklendiğinde kefir benzeri daneler oluşmuştur (54).

Kefir, inek, keçi, koyun, deve, manda sütü de dâhil olmak üzere her türlü süttten ve ceviz sütü, Hindistan cevizi sütü, soya sütü, pirinç sütü ve yer fıstığı gibi süt ikamelerinden yapılabilir ancak yaygın olarak inek sütü kullanılmaktadır (51,55). Bunların dışında süt pastörize, pastörize edilmemiş, tam yağlı, az yağlı ve yağsız olabilmektedir (53). Çeşitli meyve bazlı fermente edilmiş şekerli kefir içecekleri de üretilmektedir (13). Diğer fermente süt ürünlerinden farklı olarak kefir, jelatinimsi, sarımsı, düzensiz şekilli “kefir daneleri” matrisiyle sınırlanan karışık mikroflorayı içeren bir fermentasyon süreci sonucu üretilmektedir (14,15).

Kefir, kefir daneleri veya kefir danelerinden izole edilen mikroorganizmaların starter kültür olarak süte eklenmesiyle üretilen fermente bir üründür. Sütün yapısında bulunan temel besin öğelerinin büyük çoğunluğunu bünyesinde içermektedir. Kefir fermentasyonunun ana ürünleri; laktik asit, CO₂ ve etanol iken, ikincil bileşenler aroma kompozisyonuna katkı sağlayan, diasetil, asetaldehit, düşük moleküllü serbest yağ asitleri ve aminoasitlerdir. Bunlar kefirin kendine özgü aroma ve kıvamının oluşmasına katkı sağlamaktadır (56). Irigoyen ve arkadaşları, kefirin %0,08 - 2 (a/a) alkol ve yaklaşık 4,5 pH içerdiğini tespit etmişlerdir (57).

Kefir Türk Gıda Kodeksi Fermente ürün tebliğinde; fermentasyonda, kefir danesine özgü karakteristik mikroorganizmalar olan *Lactobacillus* kefiri, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefirgranum*’dan en az ikisini, laktozu fermente eden mayalardan *Kluyveromyces marxianus* ve etmeyen mayalardan *Saccharomyces* spp.’yi zorunlu olarak içeren bunun yanında *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Acetobacter* ve benzeri bakteri cinslerine ait türler ile farklı maya türlerini de bulundurabilen kefir danelerinin veya starter kültürlerin kullanıldığı fermente süt ürününü olarak tanımlanmıştır (58). Kefir danesi başta laktik asit bakterileri (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*) olmak üzere çok çeşitli türlere sahiptir. Ayrıca belirli mayalar (*Saccharomyces*, *Kluyveromyces* ve

Candida) ve asetik asit bakterileri (*Acetobacter spp.*) içeren bir spektruma sahiptir. Bu mikroflora, kefiran adı verilen polisakkarit matrisinin içinde yer almaktadır (59). Kefir daneleri esas olarak laktik asit bakterileri (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* ve *Streptococcus*) ve mayaları (*Kluyveromyces*, *Candida*, *Saccharomyces* ve *Pichia*) içermektedir (60).

2.3.2 Kefirin özellikleri

2.3.2.1 Kefirin fiziksel özellikleri

Kefir ile diğer fermente süt ürünleri arasındaki temel fark, sütü fermente etmek için ya “kefir daneleri” adı verilen bir başlangıç kültürünün ya da tahılların süzülmesinin kullanılmasıdır (61). Geleneksel kefir danelerinin, inek sütünün keçi derisi torbalarda dana veya koyun abomazum (şirden-dördüncü mide) ile periyodik olarak pıhtılaştırılmasından elde edildiği bildirilmiştir. Birkaç hafta sonra torbaların iç yüzeyinde pıhtılaşmanın meydana geldiği suda çözünmeyen, süngerimsi ve jel benzeri bir tabaka oluşur ve bu tabaka küçük parçalara ayrılarak kurutulduğunda kefir daneleri elde edilmektedir (62).

Kefir danelerinin boyutu 2 ile 20 mm'ye kadar değişen büyüklüklerde, jelatinimsi, sarımsı renktedir. Düzensiz şekilli karnabaharın küçük parçaları gibi görünümündedir (14) (Resim 1). Daneler içindeki mikroorganizmalar, karmaşık bir simbiyotik ilişki içerisinde nispeten istikrarlı ve spesifik bir denge içinde bulunmaktadır. Kefir daneleri laktik asit bakterileri ile maya içermektedir. Kefir daneleri, kefiran olarak bilinen bir polisakkarit ve bir protein matrisi içine alınmıştır (60). Fermantasyon sırasında bu mikroorganizmalar laktik asit ve kefirin lezzetine ve gövdesine (polisakkaritler) katkıda bulunan diğer bileşikleri üreterek çoğalmaktadır. Kefir ve kefir danelerinde bulunan ana polisakkarit, reolojik özelliklerin düzenlenmesinde önemli rol oynayan hücre dışı bir polisakkarit olan kefirandır. Kefirin reolojik özellikleri, son ürünün kalitesini ve tüketici tarafından kabulünü etkilediği için büyük önem taşımaktadır. Kefirin reolojik özelliklerini etkileyen başlıca faktörler, üretiminde kullanılan sütün kimyasal bileşimi, starter kültür,

inkübasyon sıcaklığı, sütün ısıt işlemleri vb.'dir (63). Kefir, sütün kültürlemek için kullanılan kefir danelerinde bulunan mikroorganizmaların etkisinden kaynaklanan laktik asit, karbondioksit ve (<%2) alkol konsantrasyonu nedeniyle hafif asidik bir tada ve bir miktar efervesansa sahip fermente bir sütün içeceğidir (64,65).



Resim 1. Kefir danesi (62)

Başta *Lactobacillus kefiranofaciens* olmak üzere birçok homofermentatif *Lactobacillus* türü, kefir danelerindeki maya ve bakterileri çevreleyen bir kefiran kompleksi üretmektedir (62).

2.3.2.2 Kefirin kimyasal özellikleri

Kefirin bileşimi, sütün türüne ve yağ içeriğine, dane veya kültür bileşimine ve üretim yöntemlerine bağlı olarak önemli ölçüde farklılık göstermektedir (66). Kefirin tipik bileşimi %89-90 su, %0,2 lipit, %3,0 protein, %6,0 şeker, %0,7 kül ve %1,0 laktik asit ve alkolden oluşmaktadır (52). Kefirin 1,98 g/L CO₂ ve %0,48 alkol içerdiği ve karbondioksit içeriğinin (201,7–277,0 ml/L) kefir danelerinin konsantrasyonu (10–100 g/L) ile pozitif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir (67). Kefir vücudun iyileşme ve bakım fonksiyonlarına yardımcı olan, kolayca sindirilebilen proteinler ve esansiyel amino asitler içermektedir (68). Kefir, ana

kimyasal bileşenlerin yanı sıra, asetaldehit, aseton, diasetil gibi çeşitli aroma bileşiklerini ve asetik asit, piruvik asit, hippurik asit, propiyonik asit ve bütirik asit gibi fermentasyon metabolitlerini de içermektedir (62).

Kefir, sütün içerisinde bulunan tüm besin maddelerini içerdiğinden besin değeri oldukça yüksektir. Kefirin besinsel özellikleri, içeriğinde bulunan protein vitamin ve mineraller gibi kimyasal bileşenlerden ve fermentasyon sonucu oluşan besin profillerinden kaynaklanmaktadır (52). Kefir, B₁, B₂, B₅, B₁₂, C ve K vitaminleri ile folik asit bakımından zengindir (52,62). Mikroflorasında bulunan mayalar ve asetik asit bakterileri etkisiyle yüksek antibiyotik aktivite göstermektedir ve bunların proteoliz aktiviteleri sonucu ürün serbest aminoasitler, diğer protein hidroliz ürünleri ile B grubu vitaminleri açısından zengin haline gelmektedir (65). Bununla birlikte, kefir mikrobiyotasının depolama ve saklama koşulları sırasında sürekli metabolik aktiviteleri kimyasal bileşimi etkileyebilmektedir (62). Yüksek Ca ve Mg içeriği ile birlikte kefir, karbonhidrat, yağ ve protein kullanımına yardım eden P da iyi bir kaynağıdır (65). Kefirin kompozisyonu Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Kefirin kompozisyonu (53)

Kompozisyonu	100 g	Kompozisyonu	100 g
Enerji	65 kkal	Vitaminler (mg)	
Yağ (%)	3,5	A	0,06
Protein (%)	3,3	Karoten	0,02
Laktoz (%)	4,0	B ₁	0,04
Su (%)	87,5	B ₂	0,17
Süt aside (g)	0,8	B ₆	0,05
Etil Alkol	0,9	B ₁₂	0,5
Laktik asit (g)	1	Niasin	0,09
Kolesterol (mg)	13	C	1
Fosfatlar (mg)	40	D	0,08
Esansiyel aminoasitler (g)		E	0,11
Triptofan	0,05	Mineral İçeriği (g)	
Fenilalanin + Tirozin	0,35	Kalsiyum	0,12
Löysin	0,34	Fosfor	0,10
İsolöysin	0,21	Magnezyum	0,12
Treonin	0,17	Potasyum	0,15
Metionin - Sistein	0,12	Sodyum	0,05
Lizin	0,27	Klor	0,10
Valin	0,22	Eser Elementler	
Aromatik bileşikler		Demir (mg)	0,05
Asetaldehit	+	Bakır (mg)	12
Diastil	+	Mobilden (µg)	5,5
Aseton	+	Manganez (µg)	5,0
		Çinko (mg)	0,36

Kefirin kimyasal bileşimi besin değerini yansıtmaktadır ve kefir için önerilen kalite standartları en fazla %2,7 protein, %10'dan az yağ ve en az %0,6 laktik asit şeklindedir. Türk Gıda Kodeksine göre kefirin kimyasal bileşimi Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Kefirin ürün özellikleri (58)

Kefir	
Süt proteini* (Kütlece %)	En fazla 2,7
Süt yağı (Kütlece %)	En fazla 10
Titrasyon asitliği (Laktik asit olarak kütlece %)	En az 0,6
Etanol (% hacim/ağırlık)	-
Toplam spesifik mikroorganizma (kob/g)	En az 10 ⁷
Etikette belirtilen toplam ilave mikroorganizma (kob/g) **	En az 10 ⁶
Mayalar (kob/g)	En az 10 ³

* Süt proteini; Kjeldahl metodu ile belirlenen toplam azot miktarı x 6,38

** Tebliğ kapsamında yer alan ürünlerin üretiminde bu tebliğin 4. maddesindeki ürün tanımlarının içerisinde yer alan starter kültürlerle ilave olarak eklenen diğer starter ve/veya yan kültürler.

2.3.2.3 Kefirin mikrobiyolojik özellikleri

Kefir daneleri, kazein ve mikroorganizmaların simbiyotik yaşamı sonucu oluşan jelatinimsi kolonilerdir. Bu kolonilerin iç kısmında polisakkarit ve proteinlerden oluşan ipliğimsi bir ağ mevcuttur (65). Kefir daneleri *L. bulgaricus*, *S. lactis*, *S. durans*, *L. cellobiosus*, *S. avium*, *S. cremoris*, *L. kefir*, *L. kefiranofaciens*, *L. kefirgranum*, *L. parakefir*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. fructivorans*, *L. hilgardi*, *L. fermentum*, *L. viridescens*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *S. thermophilus*, *Leuconostoc* spp. ve *Leuconostoc mesenteroides*, laktik asit bakterileri, maya ve asetik asit bakterilerini (*Acetobacter*) içermektedir (13,23). Kefirde (hem danelerde hem de içecekler) en yaygın maya türü *S. cerevisiae*'dir (13). Bu mikrobiyal yapının %65-80'ini *Lactobacillus*, %20'sini *Streptococcus*, %5'ini ise mayaların oluşturduğu saptanmıştır. *Lactobacillus*'ların en yaygın türleri *L. kefiranofaciens*, *L. kefiri* ve *L. parakefiri*'dir. Laktozu fermente eden (*Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus* ve *Torula kefir*) ve etmeyen mayalar da (*Saccharomyces cerevisiae*) kefir danelerinin bünyesinde bulunmaktadır (65) (Tablo 3). Kefir danesinin matrisindeki

mikroorganizmaların dağılımı sabit değildir. Çubuk şeklindeki LAB benzeri *Lactobacillus kefir*, kefir danesinin dış katmanında hâkimdir, *Lactobacillus kefiranofaciens* popülasyonu ise danenin tamamına, ancak çoğunlukla merkeze dağılmıştır. Mayalar genellikle çekirdekte yer alsa da laktozu fermente edenler esas olarak danenin çevresel katmanlarında bulunur. Ayrıca, danenin orta bölgesinde canlı maya ve bakteri sayıları nispeten eşit olup, çekirdeğe olan mesafeye göre ilerleyen bir değişiklik rapor edilmiştir. Danedeki toplam canlı sayının yaklaşık %1'ini oluşturmalarına rağmen, *Acetobacter* tadını ve kıvamını iyileştirmede önemli bir rol oynamaktadır (65).

Kefir danelerinde bulunan mikroorganizmaların kombinasyonu ile sütün asit-alkol fermantasyonu ile üretilmektedir (35,69). Kefir danelerinin endojen mikrobiyotası ve mikrobiyal gruplar arasındaki oran, büyük ölçüde danenin kökenine, yerel kültüre, depolama ve manipülasyon süreçlerine bağlı olarak değişmektedir (62). Kefir danelerinin, kefir mayasının ve kefir içeceğinin mikroflorası, bakteri ve maya florasının bileşenleri bakımından önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Kefir danesi, kefir starter maya ve kefir içeceğinin mikroflorasındaki farklılıklar Tablo 4'te verilmiştir (52).

Kefir danelerinin mikrobiyolojik bileşimi menşesine bağlıdır. Tipik kefir fermantasyonu 20 ila 25 °C arasındaki sıcaklıklarda yaklaşık 24 saat boyunca meydana gelir ve pH 4,2 ile 4,6 arasında değişmektedir. Fermantasyon sırasında, kefirin danelerinin kimyasal bileşimi esas olarak homofermentatif LAB tarafından laktozun dönüşümü nedeniyle değişir, önce laktik asite dönüşür, pH'ın düşmesine ve asitliğin artmasına neden olur, ardından mevcut β -galaktosidazın enzimatik aktivitesi ile geri kalan glikoz ve galaktoza hidroliz olmaktadır. Fermantasyon döngüsünün ilerleyen aşamalarında heterofermentatif LAB, glikozu CO₂, etanol ve laktik asite dönüştürür; ikincisi fermantasyondan sonra en baskın organik asittir ve bu ortamda proteinler peptidlere dönüştürmektedir.

Tablo 3. Kefir daneleri ve kefir içeceklerinde bulunduğu bildirilen mikroorganizma türleri (13)

Tür	Tür	Tür	Tür	Tür
Lactobacillus	Lactococcus	Diğer bakteriler	Mayalar	<i>Kluyveromyces dobzhanskii</i>
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	<i>Lactococcus filant</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Kluyveromyces lactis</i>
<i>Lactobacillus apis</i>	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Acinetobacter rhizosphaerae</i>	<i>Candida friedricchii</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Bacillus spp.</i>	<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Lachancea meyersii</i>
<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Candida holmii</i>	<i>Naumovozyma spp.</i>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	<i>Bacillus siamensis</i>	<i>Candida inconspicua</i>	<i>Naumovozyma castelli</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactococcus raffinolactis</i>	<i>Bacillus tequilensis</i>	<i>Candida kefir</i> (C. kefir)	<i>Pichia caribbica</i>
<i>Lactobacillus crispatus</i>	Streptococcus	<i>Bacillus methylotrophicus</i>	<i>Candida lambica</i>	<i>Pichia cecembensis</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>Streptococcus cremoris</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Candida lipolytica</i>	<i>Pichia fermentans</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	<i>Streptococcus durans</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Candida maris</i>	<i>Pichia kudriavzevii</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Bifidobacterium choerinum</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Pichia membranifaciens</i>
<i>Lactobacillus fructivorans</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Candida pseudotropicalis</i>	<i>Rhodotorula dairenensis</i>
<i>Lactobacillus gallinarum</i>	Leuconostocs	<i>Bifidobacterium pseudolongum</i>	<i>Candida sake</i>	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>
<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Leuconostoc camosum</i>	<i>Bifidobacterium psychraerophilum</i>	<i>Candida sphaerica</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Lactobacillus graviae</i>	<i>Leuconostoc gelidum</i>	<i>Enterobacter amnigenus</i>	<i>Candida tannotelerans</i>	<i>Saccharomyces delbrueckii</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Leuconostoc kimchii</i>	<i>Enterobacter hormaechei</i>	<i>Candida tenuis</i>	<i>Saccharomyces exiguus</i>
<i>Lactobacillus intestinalis</i>	<i>Leuconostoc lactis</i>	<i>Enterobacter soli</i>	<i>Candida valida</i>	<i>Saccharomyces fragilis</i>
<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Enterococcus durans</i>	<i>Candida zeylanoides</i>	<i>Saccharomyces humaticus</i>

Tablo 3. Kefir daneleri ve kefir içeceklerinde bulunduğu bildirilen mikroorganizma türleri (13) (devam)

Tür	Tür	Tür	Tür	Tür
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Cryptococcus humicolus</i>	<i>Saccharomyces lactis</i>
<i>Lactobacillus kalixensis</i>	<i>Oenococcus oeni</i>	<i>Enterococcus lactis</i>	<i>Cryptococcus victoriae</i>	<i>Saccharomyces lipolytica</i>
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>	Acetic acid bacteria	<i>Escherichia coli</i>	<i>Davidiella tassiana</i>	<i>Saccharomyces pastorianus</i>
<i>Lactobacillus kefirgranum</i>	<i>Acetobacter aceti</i>	<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	<i>Dekkera anomala</i>	<i>Saccharomyces rouxii</i>
<i>Lactobacillus mesenteroides</i>	<i>Acetobacter lovaniensis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Saccharomyces turicensis</i>
<i>Lactobacillus otakiensis</i>	<i>Acetobacter pasteurianus</i>	<i>Pediococcus claussenii</i>	<i>Debaryomyces occidentalis</i>	<i>Saccharomyces unisporus</i>
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	<i>Acetobacter rasens</i>	<i>Pediococcus damnosus</i>	<i>Dipodascus geotrichum</i>	<i>Torula kefir</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Acetobacter sicerae</i>	<i>Pediococcus dextrinicus</i>	<i>Eurotium amstelodami</i>	<i>Torulopsis holmii</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Acetobacter syzygii</i>	<i>Pediococcus halophilus</i>	<i>Galactomyces geotrichum</i>	<i>Torulaspora delbrueckii</i>
<i>Lactobacillus pentosus</i>	<i>Gluconobacter frateurii</i>	<i>Pediococcus lolii</i>	<i>Geotrichium candidum</i>	<i>Wallemia sebi</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Gluconobacter japonicus</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	<i>Hanseniaspora guilliermondii</i>	<i>Weissella sp.</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Gluconobacter oxydans</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>
<i>Lactobacillus rossiae</i>		<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>
<i>Lactobacillus sakei</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Issatchenkia occidentalis</i>	<i>Zygosaccharomyces spp.</i>
<i>Lactobacillus salivarius</i>		<i>Pseudomonas azotoformans</i>	<i>Issatchenkia orientalis</i>	<i>Zygosaccharomyces fermentati</i>
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>		<i>Pseudomonas otitidis</i>	<i>Kazachstania aerobia</i>	<i>Zygosaccharomyces lentus</i>
<i>Lactobacillus satsumensis</i>			<i>Kazachstania barnettii</i>	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>
<i>Lactobacillus sunkii</i>			<i>Kazachstania exigua</i>	
<i>Lactobacillus ultunensis</i>			<i>Kazachstania khafir</i>	
<i>Lactobacillus uvarum</i>			<i>Kazachstania servazzii</i>	
<i>Lactobacillus viridescens</i>			<i>Kazachstania solicola</i>	
<i>Lactobacillus kefirgranum</i>			<i>Kazachstania turicensis</i>	
<i>Lactobacillus mesenteroides</i>			<i>Kazachstania unispora</i>	

Laktik asit üretimi, kefirin antimikrobiyal etkisine katkıda bulunur ve doğal bir koruyucu görevi görmesi nedeniyle ev yapımı ürünün kontaminasyon riskinin düşük olmasını sağlamaktadır. Kefir daneleri ayrıldıktan hemen sonra tüketilebileceği gibi daha sonra tüketilmek amacıyla buzdolabında da saklanabilmektedir. Depolama sırasında fermente sütün özellikleri korunmalıdır; ancak kefir mikrobiyotasının sürekli metabolik aktiviteleri oluşabileceğinden, soğutulmuş kefirin bileşimi depolama sırasında etkilenebilmektedir. Kefir 3-12 günlük raf ömrünü koruyabilir. Fakat buzdolabında (4 °C) depolama sırasında viskozitenin zamanla azaldığı, toplam yağ, laktoz, kuru madde ve pH'nın 14 günlük depolamaya kadar sabit kaldığı, laktik asidin 7 günlük depolamadan sonra hafif arttığı rapor edilmiştir (70).

Tablo 4. Kefir daneleri, kefir mayası ve kefir içeceğinin mikroflorası (52)

Mikrobiyal bileşenler	Kefir Danesi (kob/g)	Kefir starter (kob/g)	Kefir içeceği (kob/g)
<i>Lactococcus</i>	10 ⁶	10 ⁸ - 10 ⁹	10 ⁹
<i>Leuconostoc</i>	10 ⁶	10 ⁷ - 10 ⁸	10 ⁷ - 10 ⁸
Termofilik <i>Lactobacillus</i>	10 ⁸	10 ⁵	10 - 10 ⁸
Mezofilik <i>Lactobacillus</i>	10 ⁶ - 10 ⁹	10 ² - 10 ³	-
Asetik asit bakterileri	10 ⁸	10 ⁵ - 10 ⁶	10 ⁴ - 10 ⁵
Mayalar	10 ⁶ - 10 ⁸	10 ⁵ - 10 ⁶	10 ⁴ - 10 ⁵

2.3.3 Kefirin sağlık üzerine etkileri

Kefirin sağlık açısından potansiyel faydalarının kaynağı olarak laktik asit, asetik asit bakterileri ve mayalar ile fermentasyon metabolitlerinin oluşturduğu kompleks mikrobiyotası gösterilmektedir (35). Kefir, antimikrobiyal, antihipertansif, anti-karsinojen, hipokolesterolemik, antiinflamatuvar, antialerjenik, antibakteriyel, antioksidan ve probiyotik etkilerinin yanı sıra hoş organoleptik özelliklere sahip olması nedeniyle son yıllarda ilgi odağı olmuştur (60,71). Kefir, kemik mineralizasyonunu ve oluşumunu artıran ve kemik hasarını azaltan kalsiyum, protein ve probiyotikler açısından zengindir. Düzenli kefir tüketimi bağırsak sağlığına ve bağışıklık sistemine faydalıdır. Serum glikoz seviyelerini düzenleyerek laktoz intoleransı semptomlarını hafifletmekte ve obezitenin kontrolüne yardımcı olmaktadır (12). Yoğurttan daha az bilinmesine rağmen kefir üretimi sırasında oluşan

biyoaktif bileşenleri içermektedir. Bu biyoaktif bileşenlerin kefir önemli bir probiyotik ürün olarak birleştirdiği ve ona potansiyel sağlık yararları sağladığı gözlemlenmiştir (14). Kefirin besinsel özellikleri, kefir fermentasyonu sırasında kısmi protein ve laktoz parçalanmasının yanı sıra bazı vitaminlerin senteziyle de artmaktadır (59). Kefirde fermentasyon sırasında B₁, B₁₂ ve K vitaminleri, kalsiyum, folik asit ve amino asit düzeylerinin arttığı da bilinmektedir. Kefire, tümörlere karşı artan bağışıklık tepkileri, hipertansiyon ve alerjilerin tedavisi de dahil olmak üzere pek çok sağlık faydası atfedilmiştir (69).

Fermente süt ürünleri, istenmeyen florayı engelleyerek bağırsak florasını onarma kapasitesine sahiptir ve antibakteriyel aktivite, kültür aktivitesinden, depolama sıcaklığı ve süresinden ve başlangıçtaki kontaminasyon seviyesinden etkilenmektedir (72). Kefirin bileşiminde bulunan bazı probiyotik türlerinin antibakteriyel özellikleri bağırsak enfeksiyonlarına karşı koruma sağlamaktadır. Buna kefirden izole edilen benzersiz bir laktik asit bakteri türü olan probiyotik *Lactobacillus kefir* de dâhildir (73). Kefir, ameliyat sonrası hastaların veya mide-bağırsak rahatsızlığı olan hastaların tedavisinde faydalı olduğu bilinmektedir (72). Zhu ve arkadaşlarının yaptıkları meta analizde probiyotik suşlarının *Escherichia coli*, *Salmonella* ve *Helicobacter pylori* dâhil olmak üzere çeşitli zararlı bakterilerin büyümesini engelleyebileceğini tespit etmişlerdir (74). Murashova ve arkadaşlarının şiddetli bağırsak enfeksiyonu olan ve bifidokefir (*Bifidobacterium bifidum*'un fizyolojik hücrelerini içeren kefir) alan bebeklerin hastalıktan sonraki 7-11 gün içinde *Salmonella* ve *Shigella*'nın hızlı inhibisyonunu indüklediğini ve dışkı florasının 4,8±0,8 gün sonra normale döndüğünü belirtmişlerdir. Bifidokefir almayan bebek grubu için karşılık gelen rakamlar sırasıyla 12-18 ve 6,6±0,9 gün olarak belirtilmiştir. Bifidobakteri içeriği 5x10⁷ olan Bifidokefir, insanlarda bağırsak florası üzerinde olumlu etki göstermektedir ve bağırsak Bifidobakterileri ile *Lactobacillus* dengesini normalleştirmiş, buna patojen popülasyonunda azalma ve laktik asit bakterilerinde 7-14 gün içinde azalma eşlik etmiştir (75).

İnsanlarda kefirin bağırsak bütünlüğü üzerindeki etkisi de incelenmiştir. Zonulin, makromoleküllerin taşınmasında yani bağışıklık tepkisi dengesinde yer alan

ve şimdiye kadar açıklanan hücreler arası sıkı bağlantıların tek fizyolojik modülatörüdür. Kısacası bağırsak bütünlüğünün korunmasına katılan bir proteindir. Genetik olarak duyarlı bireylerde ince ayarlı zonulin yolu serbest bırakıldığında hem bağırsak hem de bağırsak dışı otoimmün, inflamatuvar ve neoplastik bozukluklar ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca, zonulin üretimindeki artış bağırsak bariyerinin fonksiyon kaybına yol açmakta ve bunun sonucunda antijenlerin paraselüler içerikten geçişi ve doğal immün yanıtın aktivasyonuna yol açmaktadır (76). Sağlıklı, aşırı kilolu ve asemptomatik yetişkini kapsayan çalışma da kefir kullanımının serum zonulin konsantrasyonunu değiştirdiğini bulmuştur. Kefirin probiyotik kapasitesinin bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu modüle edebildiği ve bu durumun serum zonulin konsantrasyonlarını arttırarak aşırı bağırsak geçirgenliğini önlediği görülmüştür. Sonuç olarak, obezitede önerildiği gibi, bağırsak geçirgenliğinin değişmesi durumunda ortaya çıkan düşük dereceli kronik inflamasyonun kontrolünü sağlamaktadır (77). Wlash ve arkadaşları sağlıklı katılımcıların 28 gün boyunca ticari probiyotik içeren fermente süt ürünü, geleneksel kefir veya prebiyotik inulin ile zenginleştirilmiş diyetin günlük tüketimini takiben klinik ve antropomorfik parametrelerini, bağırsak mikrobiyotasının bileşimini ve fonksiyonel potansiyelini ve metabolom profilini araştırmışlardır. Çalışmayı takip ettiklerinde tedavilerin klinik parametrelerinde (vücut yağ yüzdesi, anksiyete ve gastrointestinal semptomları) bir değişiklik saptanmamışken, kefir tüketiminin bağırsak mikrobiyotasında değişikliklere, özellikle de *Lc. raffinolactis* mevcudiyetinde artışa yol açtığı tespit edilmiştir. Bu, *Lc. raffinolactis* ile konakçı arasındaki potansiyel metabolik etkileşimleri gösteren spesifik metabolitlerdeki ılımlı değişikliklerle ilişkilendirilmiştir. *Lc. raffinolactis* güvenlik ve uyarlanabilirlik özellikleri, onu probiyotik ve fermente gıda ürünleri bağlamında daha ileri araştırmalar için umut verici bir aday haline getirmektedir (78).

2.3.4 Kefir üretim yöntemleri

Günümüzde kefir üretiminde endüstriyel ve geleneksel yöntemler kullanılmaktadır. Endüstriyel üretimde farklı yöntemler kullanılsada temelde geleneksel üretim yöntemi ile benzer prensiplere dayanmaktadır (79).

Endüstriyel kefir üretiminde liyofilize kültür kullanılması tercih edilse de kefir danesi üretim yöntemi de kullanılabilir. Kefir daneleri geniş bir mikroflora içermektedir (59).

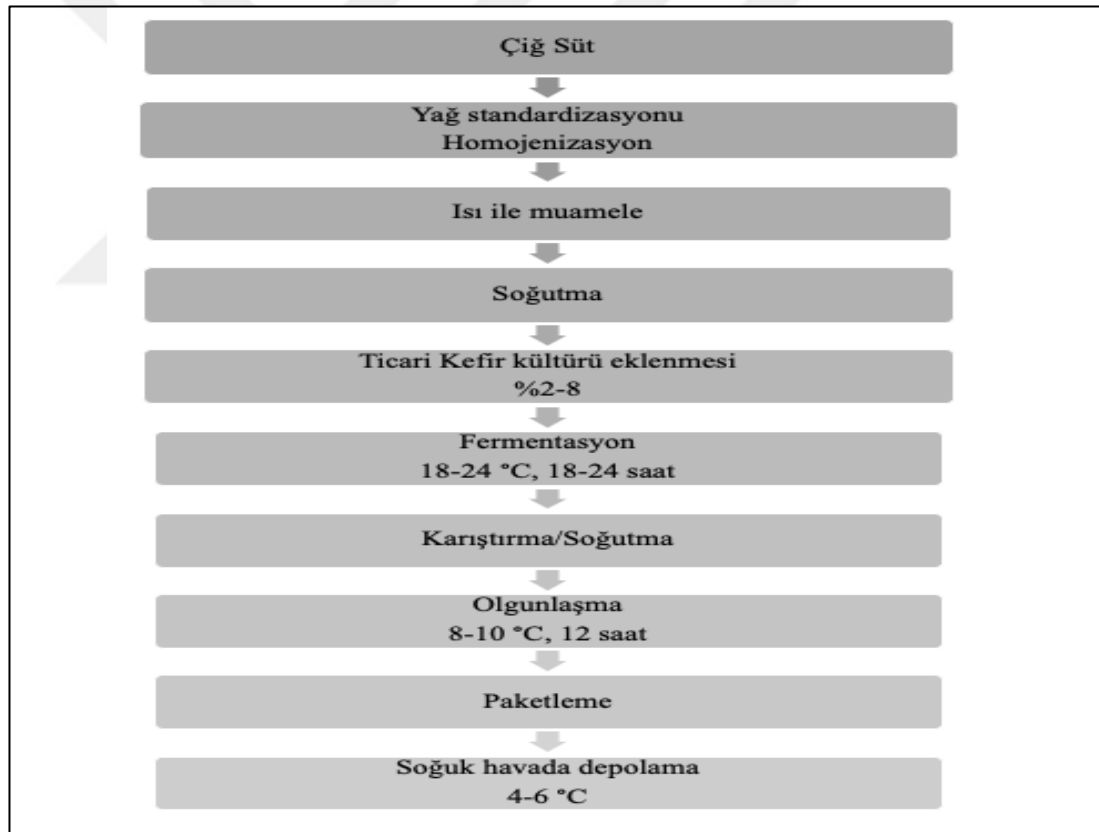
Endüstriyel üretimde ısı işleme tabi tutulan süte kefir danesi yerine kefir kültürü eklenmekte ve fermentasyon sonunda direkt şişelenmektedir (Şekil 1). Geleneksel kefir üretiminde ise kefir danesi süte direkt olarak ilave edilmektedir (Şekil 2) (79).

Kefir daneleri, kütleleri artana kadar sütte bekletilen mevcut danelerden elde edilmektedir (54). Kefir danelerinin canlılığı, biyokütle artışını sağlayan fermentasyon döngüleri ile elde edilen bakteri/maya oranının korunması yoluyla garanti altına alınmaktadır. Bu artış sıcaklığa, pH'a, danenin yıkanmasına, süütün yenilenmesine ve besin maddelerinin varlığına bağlıdır. Ev tipi kefir üretimi için danenin dikkatli bir şekilde muhafaza edilmesi gerekmektedir, özellikle -20 °C'de dondurularak muhafaza edilirse, bu daneler aktivitelerini birkaç yıl boyunca koruyabilmektedir (54,70).

Kefir üretiminde de çiğ süütün kalitesi çok önemlidir. Kefir farklı ırkların (inek, keçi, koyun) sütleriyle üretilmesine rağmen endüstriyel üretimde tam yağlı, az yağlı veya yağsız inek sütü tercih edilmektedir. Kefir üretiminde süt oranı, standart kalitede bir ürün elde etmek için kritik öneme sahiptir çünkü pH'ı, viskoziteyi, nihai laktoz konsantrasyonunu, CO₂ içeriğini ve son ürünün mikrobiyolojik profilini etkilemektedir (62). Garrote ve arkadaşları viskoz ve çok asidik olmayan bir ürün isteniyorsa %1'lik bir oran önermiş ve %10'luk bir oranın düşük viskoziteli ve daha efervesan tadı olan asitli bir içecek oluşturduğunu bildirmiştir (80).

Endüstriyel kefir üretiminin iki temel yolu vardır. Birinci olarak süütün kefir daneleri ile fermente edilmesi ve elde edilen fermentatın alt kültüre tabi tutulmasıyla üretilen kefirdir. İkinci olarak ise doğrudan süte aşıl原因an ticari starter kültürlerin uygulanması yoluyla üretilen kefirdir. Kefir daneleriyle üretilen kefir, kefir danelerinin farklı mikrobiyolojik profiline bağlı olarak büyük ölçüde farklılık göstermektedir. Ayrıca fermentasyon sürecindeki değişiklikler tat ve dokuda önemli

değişikliklere neden olabilmektedir. Endüstriyel kefir üretiminde doğrudan fiçıya aktarılan kültürlerin kullanılması, endüstriyel kefirin üretimini basitleştirir ve mayaların ve bakteri türlerinin dikkatli seçimiyle, kabul edilebilir kefir aromasına sahip ve çok iyi muhafaza niteliklerine sahip bir ürün üretmek mümkündür. Bu şekilde yapılan kefirin raf ömrü 3-12 gün olan kefir danelerinden üretilen kefire kıyasla 28 güne kadar çıkartılabilmektedir. Ancak endüstriyel kefir türü, daneden yapılan kefirin mikrobiyal çeşitliliğinden yoksundur ve bu nedenle aynı tedavi edici ve probiyotik özelliklere sahip olmayabilmektedir (54). Kefirin fermentasyonu esnasında ortaya çıkan süt kaynaklı antioksidan peptitlerin, serbest radikallerin temizlenmesinde veya oluşumunun önlenmesinde büyük etkisi olduğu belirlenmiştir (70).



Şekil 1. Endüstriyel kefirin üretim proses şeması (62)

Geleneksel yöntemle kefir pastörize süte kefir danelerinin ilave edilmesi ve oda sıcaklığında yaklaşık bir gün fermentasyona bırakılmasıyla üretilmektedir. Kefir oluşuktan sonra kefir daneleri süzülerek fermente üründen ayrılmaktadır (14).



Şekil 2. Kefirin geleneksel üretim proses şeması (59)

Geleneksel üretimde kefir danelerinin çıkarılmasının ardından soğutma aşaması gerçekleştirilir ancak endüstriyel üretimde soğutma öncesinde pH 4,5-4,6'ya ayarlanmaktadır. Geleneksel yöntemden farklı olarak endüstriyel üretimde olgunlaşma aşaması, kefirin 8–10°C'de 12 saate kadar bekletilmesiyle gerçekleştirilebilmektedir. Kefirin pH değeri olgunlaşma sonunda 4,3-4,4'e düşmektedir. Olgunlaştırma adımının amacı, kefir içerisinde, ürünün kendine özgü aromasına katkıda bulunan, başta mayalar olmak üzere mikroorganizmaların doğru şekilde çoğalmasına olanak sağlamaktır. Whey proteinleri ayrıca olgunlaşma döneminde daha yüksek miktarda su emerek daha tutarlı ve viskoz bir ürün oluşturmaktadır. Paketleme sırasında kefirin kalitesinin bozulmaması için uygun mekanik sistemlerin kullanılması gerekmektedir (62).

Kefir üretimi için kullanılan sütün ısıtılması sırasında, whey proteinlerinin tamamen denatüre olması için yeterli sıcaklık ve süre (örn. 95°C, 10-15 dk) kullanımı önemlidir. Su tutma kapasitesi yüksek olan denatüre whey proteinleri, nihai üründe suyun ayrılmasını önler ve kıvamı artırır. Redoks potansiyelini azaltır, inhibitör maddeleri ortadan kaldırır ve lipaz enziminin inaktivasyonu yoluyla

hidrolitik ekşimeyi önler. Geleneksel üretimde kefir daneleri (%2-10) ısıtıl işlem görmüş süte doğrudan eklenir, ancak %5 kefir danesi içeren kefir üretiminin etanol ve uçucu asit üretimi için optimum olduğu kanıtlanmıştır (59).

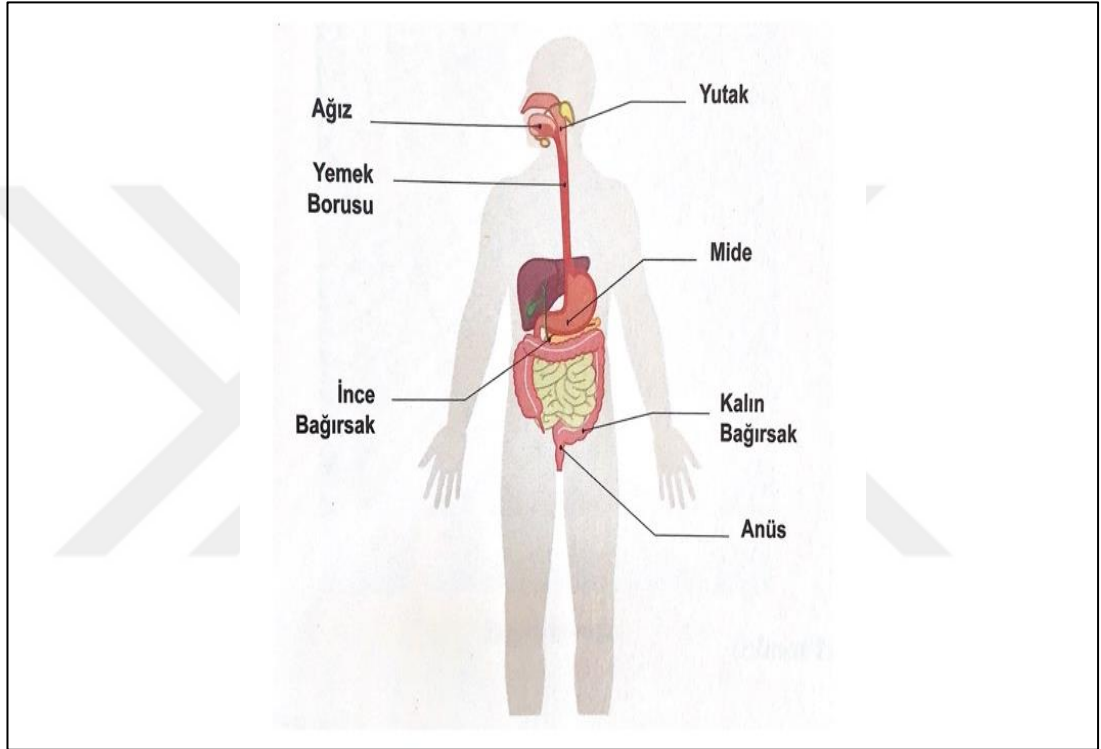
2.3.5 Gastrointestinal sistem

Gastrointestinal Sistem (GIS, sindirim sistemi), sindirilen yiyecek ve içeceklerden makro besin ögeleri olan protein, karbonhidrat ve yağların sindirimi, sıvılar, mikro besin ögeleri ve eser elementlerin emilimi ile besinlerle alınan, yabancı maddeler ve olası antijenler için fiziksel ve immünolojik bir bariyer sağlamaktadır (81).

Sindirim, vücut tarafından kullanılmak üzere daha fazla metabolize edilecek bileşenlerini serbest bırakmak için yutulan besinlerin fiziksel ve kimyasal olarak parçalanmasıdır. Besinlerin bileşimi ve yapısı, sindirim sırasında besinsel ve fonksiyonel performanslarında önemli bir role sahiptir. Besin matrisi, besinlerin salınımını ve sindirim sırasında vücudun hedef bölgelerine olan yolculuklarını etkilemektedir ki altta yatan mekanizmaları anlamak önemlidir. Besinlerin sindirimi, besin alımını, uygun biçimlere parçalanmasını, temel birimlerin emilmesini, ilgili organlara taşınmasını ve kalan atıkların atılmasını sağlayan çok yönlü ve çok ölçekli fizikokimyasal süreçlerin karmaşık bir bileşimidir (2).

Sindirim, besinlerin içindeki enerji ve besin ögelerini, vücudumuzun hücreler için kullanılabilir haline dönüştüren bir süreçtir. Vücudumuzu oluşturan hücreler, besinlerin içerisinde yer alan enerji ve besin ögelerini, özgün halleri ile kullanamamaktadır (7). GIS'in temel fonksiyonu, tüketilen besin maddelerini organizmanın kullanabileceği moleküler formlara dönüştürmektir. GIS, santral sinir sistemi ve lokal olarak enterik sinir sistemi kontrolü altındadır. Besinler makromoleküller halinde sindirim kanalına girmektedir, fakat bağırsak kanalından bu şekilde geçmesi mümkün değildir. Besin maddeleri emilmeden önce çözülmesi ve küçük moleküllere dönüştürülmelidir (82). GIS, sindirim sistemi, sinir ağı ve hormonlar tarafından kontrol edilen yardımcı organlardan oluşmaktadır. Toplam

uzunluğu yaklaşık 9 m'dir (7). GIS, ağız, farenks (yutak), özefagus (yemek borusu), mide, ince bağırsak (duodenum, jejunum ve ileum) ve kalın bağırsaklardan (kolon, çekum ve rektum) oluşmaktadır. Sindirim kanalına dâhil olmadıkları halde salgıladığı maddelerle kanala ilişkili olarak dişler, dil, tükürük bezleri (82) ile hepatobiliyer sistem olarak tanımlanan karaciğer, safra kesesi ve pankreas sindirim sisteminde aktif rol oynamaktadır (83) (Şekil 3).



Şekil 3. Gastrointestinal sistem (84)

Sindirim sürecinde farklı sistemlerin, organların, kasların ve enzimlerin birlikte çalışması sağlanmaktadır. Bu süreç hem mekanik hem de kimyasal bir bütünü kapsamaktadır. Mekanik sindirim ağızda başlar, besinlerin çiğnenmesi, parçalanması ve yutulmasını içeren fiziksel bir güç ile başlamaktadır. Daha sonra mideye geçen besinler, midedeki çalkalanma hareketi ile krema kıvamındaki kimüs haline gelmektedir. Mideden çıkan kimüs, peristaltik hareketler ile sindirim kanalı boyunca mekanik bir şekilde hareket etmektedir. Kimyasal sindirimde ise; sindirim sıvıları ve enzimler görev almaktadır. Besinler, kimyasal reaksiyonlar ile vücudumuz tarafından emilebilen besin öğelerine parçalanmaktadır. Mekanik ve kimyasal

sindirim birlikte çalışmaktadır (7). Yani GIS, tüketilen besinlerin ağızdan anüse kadar ilerlemesini sağlamaktadır. Ayrıca bu besinlerin vücutta kullanılabilir hale gelmesi için gerekli enzim ve hormonların sentez ve salınımı ile besinlerin sindirim, emilim ve atılımından sorumludur (85).

2.3.5.1 Gastrointestinal sistemin işlevleri

Sindirim kanalının fonksiyonu; sindirim, salgılama, emilim ve motilite ile bunları kontrol eden mekanizmalarla tanımlanır (86). Sindirim, sekresyon ve emilim gerçekleşirken, gastrointestinal kanal duvarındaki düz kasların kasılmaları, luminal içerikleri çeşitli sekresyonlarla karıştırmaktadır ve bunları kanal boyunca proksimalden distal bölgelere, yani ağızdan anüse doğru hareket ettirmektedir. Sindirim sisteminin her bir parçasının, sindirilmiş ürünlerin ekstraksiyonunu ve atıkların bertarafını birlikte gerçekleştirdikleri belirli bir işlevi bulunmaktadır (87).

Sindirim; tüketilen besinlerin öğelerine ayrılması, enerji gereksinimi ve büyüme için vücut tarafından kullanılmasını sağlayan, sağlığın devamlılığı için hayati önem taşıyan, karmaşık bir süreçtir. Sindirim ilk olarak alınan besinlerin ağızda dişler yardımı ile parçalanmasıdır. İkinci olarak, tüketilen besinler sindirim kanalında ilerleyerek besin öğelerine (karbonhidrat, protein ve yağ) ayrılarak, kan dolaşımına geçmesidir (85).

Çözülme ve parçalanma süresi olan sindirim, midede HCl asit ile karaciğerden gelen safra, sindirim sisteminin ekzokrin bezlerinden gelen sindirim enzimlerinin etkisi ile gerçekleşmektedir. Bu ürünlerin sindirim kanalı boyunca lümen içine salgılanmasına sekresyon denilmektedir. Sindirim sonucu oluşan moleküller, sindirim kanalı lümenden bağırsak epitelyum hücrelerine, oradan kan ve lenf dolaşımına geçmektedir. Buna emilim (absorpsiyon) denilmektedir. Sindirim, salgılama ve emilim sırasında sindirim kanalı duvarında bulunan düz kasların kasılması, lümen içeriğinin çeşitli salgılarla karşılaştırılması ve kanal boyunca ağızdan anüse kadar ilerletilmesini sağlamaktadır. Bu kasılmalar, sindirim kanalı motilitesidir (82).

2.3.5.2 Gastrointestinal sistem organları

2.3.5.2.1 Ağız, dil ve tükürük bezleri

Ağız, tükürük bezleri, mukoza, dişler ve dili kapsamaktadır. Sindirim sistemi ağız ile başlamaktadır (84). Ağız içerisinde aldığı besin sonrası, tükürük bezlerinden tükürük üretmeye başlamaktadır (7). Tükürük, tükürük bezleri ve ağız boşluğunda bulunan küçük mukus salgılayan bezlerin ortak salgısıdır. Tükürük bezleri parotis, submandibular ve sublingula bezidir (83). Tükürük salgısı içerisinde amilaz adı verilen bir enzim bulunmaktadır ve bu enzim ile kimyasala parçalanma başlamaktadır (84). Tükürük pityalin sindirimine en etkin olan pH'ya (6.0-7.0) sahiptir. Tükürükte bulunan α -amilaz enzimi sayesinde nişastanın sindirimi ağızda başlamaktadır (83). Özellikle nişastanın sindiriminin %30'u ağızda gerçekleşmektedir (7). Sindirimdeki ilk adım çiğnemedir. Dişler sindirim sisteminin hem yapısal hem de fonksiyonel bir parçasıdır (84). Dil yardımıyla, besin dişlerin arasında öğütülerek, daha küçük parçalara ayrılması sağlanmaktadır. Bu mekanik sindirim esnasında da tükürük salgılanmasında artış meydana gelmektedir. Çiğneme sonrası ağızda daha yumuşak hale gelen yiyecekler, sindirim kanalına doğru ilerlemektedir (7).

2.3.5.2.2 Farenks (yutak) ve özefagus (yemek borusu)

Farenks, yaklaşık 12-14 cm uzunluğunda, kas ve mukozadan oluşan, ağız ve burun boşluğunun arkasında yer alan tüp biçiminde bölümdür. Yaklaşık bir organdır (84). Dil ve damak yardımıyla, çiğnenen besinleri özefagusa göndermektedir. Çiğneme sırasında öğütülen ve tükürük ile karışan besin pürelerini dil farenkse yönlendirir, soluk borusu gırtlak kapağı ile kapanır ve bu sayede besinlerin özefagusa geçmesi sağlanmaktadır (7).

Özefagus, farinksten başlayıp mideye kadar uzanan müsküler ince duvarlı, içi boş organdır (83). Boyu yaklaşık 25 cm, çapı 2 cm'dir. Yapısal olarak alkali özelliktedir (84). Yutulan besinler, özefagusa geldiğinde tek yönlü olarak, özefagus

peristaltik hareketlerle kasılarak besinlerin mideye doğru ilerlemesini sağlamaktadır (7). Normal koşullar altında besinlerin aşağıdan yukarıya doğru hareket etmesine müsaade etmemektedir. Özefagusta sindirim gerçekleşmese de kasılıp gevşeme hareketleri ile az da olsa mekanik sindirime katkıda bulunmaktadır. Özefagus, ağız ve mideyi birleştirmektedir (84).

2.3.5.2.3 Mide

Mide, özefagus ile bağırsaklar arasında kalan kardial, fundus, korpus, antrum ve pilor bölümlerinden oluşan, keseye benzer bir organdır. Bu bölümlerin birbiri ile koordineli olarak kasılıp gevşemesiyle mekanik ve kimyasal sindirim işlemi gerçekleşmektedir (83). Mide, kaslardan oluşan genişleyebilen bir organdır (7). Fundus, besin ve sıvı alımında gevşerken, boşalmada kasılarak katkı sağlamaktadır (83). Ayrıca genişleyebilen bu organ besinlerin sindirimi sırasında ½ ile 5 saat arası bekleyebileceği depo organ durumundadır. Mide 1,5 L sıvıyı içinde tutabilmektedir ve maksimum 4 L sıvı tutma kapasitesi bulunmaktadır (84).

Özefagus ile midenin birleşim yeri kardial, midenin ince bağırsak ile birleşim yeri ise pilor'dur. Midenin içini örten mukozasından günde yaklaşık 2500 mL sindirim sıvısı salgılanmaktadır. Bu mide salgısında, hidroklorik asit (HCl), bikarbonat, mukus, intrinsek faktör ve enzimler bulunmaktadır. Enzimler besinlerin parçalanmasına veya hidrolize edilmesine yardımcı olur ve etki ettikleri molekül tipine göre dört grup altında toplanmaktadır. Nişasta gibi polisakkarit yapısını parçalayan 'amilaz', yağları parçalayan 'lipaz', proteinleri ve polipeptilleri parçalayan 'proteaz', nükleik asit ve nükleotidleri parçalayan ise 'nükleaz' enzimleridir. İntrinsek faktör ağızdan alınan B₁₂ vitamininin emilmesinde gereklidir (84).

Midede bulunan HCl ve enzimler kimyasal olarak besinin sindirimini sağlarken, peristaltik hareketler ile de besinin mekanik sindirimini sağlamaktadır. Bu sindirim ile oluşan yeni karışım 'kimus' olarak adlandırılmaktadır (83). Kimus, midedeki son evreye ulaşan sindirilmiş besinlerin bağırsağa verilmeden önce dönüştüğü bulamaca denilmektedir. Mideye giren besinler, mide duvarındaki kasların etkili hareketleri

sonucunda mide salgısıyla karıştırılarak bulamaç haline dönüştürülmektedir (7). Asidik özelliğe sahip kimüs, sindirime yardımcı olmakla beraber bakterilerin de yok olmasını sağlamaktadır (83). Besinlerin bekleme süresinin uzun sürmesi, protein ve yağ açısından yoğunlaşmış bir içerik oluşmasına ve aşırı asitleşmeye neden olmaktadır (84). Midenin pH'sı asidiktir (7). Mukus ve bikarbonat mide mukozasını asit salgısının tahrişinden korumaktadır. Meydana gelen kimüs ince bağırsaklar tarafından emilecek seviyeye geldiyse, azar azar miktarlarda pilor kanalından duodonuma (oniki parmak bağırsağına) geçmektedir. Sıvı besinlerin mideyi terk etme süresi katı besilere göre daha hızlıdır ve midenin boşalması yaklaşık olarak 20 dk sürmektedir. Katı-sıvı karışımı besinlerin ise mideyi terk etmesi yaklaşık 1,5 saati bulabilmektedir (84).

2.3.5.2.4 İnce bağırsak

GIS, mide ile kalın bağırsak arasındaki kısımdır ve sindirimin en önemli bölgesidir. İnce bağırsak, sindirim kanalının en uzun kısmını oluşturmaktadır (84). Yaklaşık 6 metre uzunluğundadır. Duodonum (oniki parmak bağırsağı), jejunum ve ileum olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. Sindirimin çoğunluğu ve neredeyse tüm besin maddelerinin emilmesi, ince bağırsakta gerçekleşmektedir. Besinler mideden duodonuma pilor veya pilorik sfinkter olarak adlandırılan kas ile girmektedir (7). İnce bağırsaklar segmentasyon ve peristaltizm olmak üzere iki çeşit hareket yapmaktadır. Segmentasyon hareketleriyle kimusu karıştırırken, peristaltik hareketlerle ileriye doğru hareketi sağlanmaktadır (84). Kimyasal sindirim ince bağırsaklarda tamamlanmaktadır (7).

Gerekli enzim ve yardımcı sıvılar pankreas, karaciğer ve bağırsak çeperinden gelmektedir. Sindirimi tamamlanmış besin öğelerinin emilimi en fazla ince bağırsaklarda gerçekleşmektedir (7). Yağların ilk kimyasal sindirimi burada gerçekleşmektedir. İnce bağırsağa gelen safra ve pankreas suyu ile yağların, karbonhidratları ve proteinlerin sindirimi tamamlanmaktadır. Mekanik yolla sindirim, bağırsakların peristaltik hareketleri sonucu oluşmaktadır. Kimyasal sindirim ise 'enterokinaz' ve 'tripsin' enzimleri ile olmaktadır (84).

Duedonumdan kolesistokinin ve sekretin adı verilen iki hormon salgılanmaktadır. Bu hormonlar mide hareketleri ile safra kesesinden safra salgısının da düzenlenmektedir. Duedonuma ayrıca pankreas ve karaciğerden gelen salgılar katılmaktadır. Pankreas salgısı trigliserit, kolesterol ve fosfolipitlerin parçalanmasını sağlayan pankreas lipaz ile duedonuma gelen asidik kimusun asitliğini nötralize edebilmek amacıyla bikarbonattan zengindir. Safra salgısı yağların sindiriminde görevlidir ve yağların sulu ortamda bir araya toplanarak büyük kitleler oluşturmasını engellemektedir. Bu işleme yağların emülsifikasyonu (çözmeden karışım) denilmektedir (84).

Besinler ince bağırsakta en küçük moleküllerine kadar parçalanır ve bu moleküllerin ince bağırsaktan kan damarlarına geçmesine emilim adı verilmektedir (84). İnce bağırsağın iç yüzeyinde mukoza adı verilen içi boş astarda, emilimi arttırıcı 'villus' adı verilen parmak benzeri çıkıntılar yer almaktadır (81).

Villus, ince bağırsak mukozasının tamamına yayılarak kadifemsi bir görünüm yaratmaktadır. Bunlar kimusta bulunan besin öğelerinin emiliminin gerçekleştiği yerdir. Villus, epitel ve mikrovillus denilen daha küçük silindirik uzantılarla kaplıdır (81). Bunlar, besin öğelerini bağırsakta tutan ve bağırsak yüzeyindeki enterositlere doğru taşıyan küçük dokunaçlar gibi davranmaktadır. Enterositler, pasif ve aktif taşıma ile besin öğelerini dolaşım sistemine ulaştırmaktan sorumludur. İnce bağırsağın tüm fonksiyonları, orada yaşayan bakteriler tarafından doğrudan etkilenmektedir (7).

Besinlerin kalın bağırsağa ulaşması ile birlikte içeriğindeki sıvıların büyük kısmı emilmiştir. Akışkan püre kıvamındaki bağırsak içeriğinin ince bağırsaktan kolona aktarımı kaslardan oluşmuş kapak vasıtasıyla gerçekleşmektedir. Bu kendi başına çalışan otonom refleksdir. Mide ile duedonum bağlantısında pilor sfinkter, ileum ile kalın bağırsak bileşim yerinde ileo-çekal vavül bulunmaktadır. Pilor sfinkteri kimusun duedonuma geçişini, ileo-çekal valvül ise ince bağırsaktan kalın bağırsağa geçişini kontrol etmektedir (84).

2.3.5.2.5 Kalın bağırsak

Kalın bağırsak, ince bağırsak ile anüs arasındaki kısmıdır (84). Kalın bağırsak, ince bağırsaktan çok daha kısadır ve yaklaşık 1,5 metre uzunluğundadır (7). Kalın bağırsak çekum, kolon, rektum ve anal kanal olarak bölümlere ayrılmaktadır. Kalın bağırsağın başlangıç kısmı olan çekum, çapı en geniş bölge olup, kolon boyunca daralmaktadır ve anal kanaldan hemen önce yer alan rektum bölgesinde tekrar genişlemektedir. Burada villus veya mikrovilluslar bulunmamaktadır ve kimyasal sindirim gerçekleşmemektedir. Kalın bağırsağın ana görevi, su ve suyun içinde erimiş olan maddelerin (K, Na gibi mineralleri, besinlerden elde edilen sindirim ürünlerini ve mikrobiyal metabolizma sonucunda oluşan yıkım ve artık ürünleri) geri emilimini sağlayarak bağırsak içeriğinin katı kıvamlı bir dışkı kitlesine yoğunlaştırılmasıdır (84). Kalın bağırsaktaki kaslar, dışkıyı rektumun önüne doğru hareket ettirmekte ve rektal duvarların gerilmesine sebep olmaktadır. Rektal duvarlardaki reseptörler, anüsün ilk sfinkteri üzerindeki basıncı artırmak için omirilik ile iletişim kurarak, dışkı dürtüsünü oluşturmakta ve dışkılamaya sağlamaktadır (7).

Besinler, sağlığımızda önemli rolü olduğu bilinen bağırsak mikrobiyotasını da etkilemektedir. Bireyin yeterli ve dengeli beslenerek, yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilmesi için sağlıklı sindirim sistemine sahip olması önemlidir. Sindirim sistemi hastalıklarının medikal tedavisi; türüne, bulunduğu bölgeye ve bireysel etmenlere bağlı olarak farklılık göstermektedir. Medikal tedaviye eşlik eden tıbbi beslenme tedavisinde temel amaç gastrointestinal sistem hastalıklarında hastalık süresince oluşacak komplikasyonlardan korunmak, bireyin yeterli ve dengeli beslenmesini sağlamak için bireye özel en uygun beslenme programının yapılmasıdır. Besin içeriklerinin uygun biyoaktivite ve biyoetkinlik gösterilebilmesi için öncelikle gastrointestinal sistemden emilimleri ile biyoyumumluluklarının değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu sebeple GIS modellemelerin ve denemelerin yapılabilmesi için sistemindeki tüm bölgelerin fizyolojik aşamalarının doğru uygulanması gereklidir. Ayrıca karbonhidrat, protein, yağ içeriği ile ek formülasyonlara göre sindirim ve emilimin gerçekleşeceği bölge doğru tanımlanmalıdır. Model oluştururken buna dikkat edilmelidir (85).

2.3.6 Dinamik *in vitro* gastrointestinal sistem

Probiyotik ürünler, etiketinde belirtilen probiyotik suş/suşlarının 10^6 canlı hücre miktarını içermelidir. Bu gereklilikler, probiyotik ürünün/takviyenin iddia edilen yararlı sağlık etkisini yerine getirmedeki etkinliğini sağlamak için ön şarttır.

Bir probiyotik ürün etiketi,

- (i) probiyotik mikroorganizmanın cins, tür ve suş seviyesinde tanımını (cins ve tür adları mevcut bilimsel olarak geçerli terminolojiye atıfta bulunmalı, suş tanımlamaları ise suşun suş depolarındaki girişlere kadar izlenmesine ve suşlarla bağlantı kurulmasına izin vermelidir);
- (ii) raf ömrünün sonunda her bir probiyotik suşunun minimum canlı hücre sayısını;
- (iii) probiyotik ürünün/takviyenin porsiyon büyüklüğü talep edilen sağlık yararını sağlayacak etkili dozun verilmesini;
- (iv) doğru olması ve yanıltıcı olmaması gereken sağlık beyanını;
- (v) uygun saklama koşullarını;
- (vi) tarihe göre kullanımını;
- (vii) tüketici bilgilerine yönelik kurumsal iletişim bilgilerini içermelidir.

Bununla birlikte, birçok çalışma, ticari probiyotik ürünlerinin gerçek içeriğinin, canlı hücrelerin dozu ve mikroorganizma türü açısından etiketleriyle tutarsızlığını bildirmektedir. Bu bulgular probiyotiklerin etiketlenmesinin desteklenmesi ihtiyacını doğurmaktadır (47).

Probiyotiklerin sağlığı geliştirici etkileri genellikle gastrointestinal sistemden geçiş sırasında hayatta kalmalarına bağlıdır. Sağlığa fayda gösterebilmesi için probiyotik mikroorganizmaların sindirim koşullarına dayanıklı olması ve ortamda yeterli miktarda kolonize olması gerekmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların konakçıdaki yararlı etkilerini ve hayatta kalmalarını kanıtlamak ve anlamak için, bu mikroorganizmaların gastrointestinal geçiş boyunca geçişi gözlemlenmesi önemlidir (47).

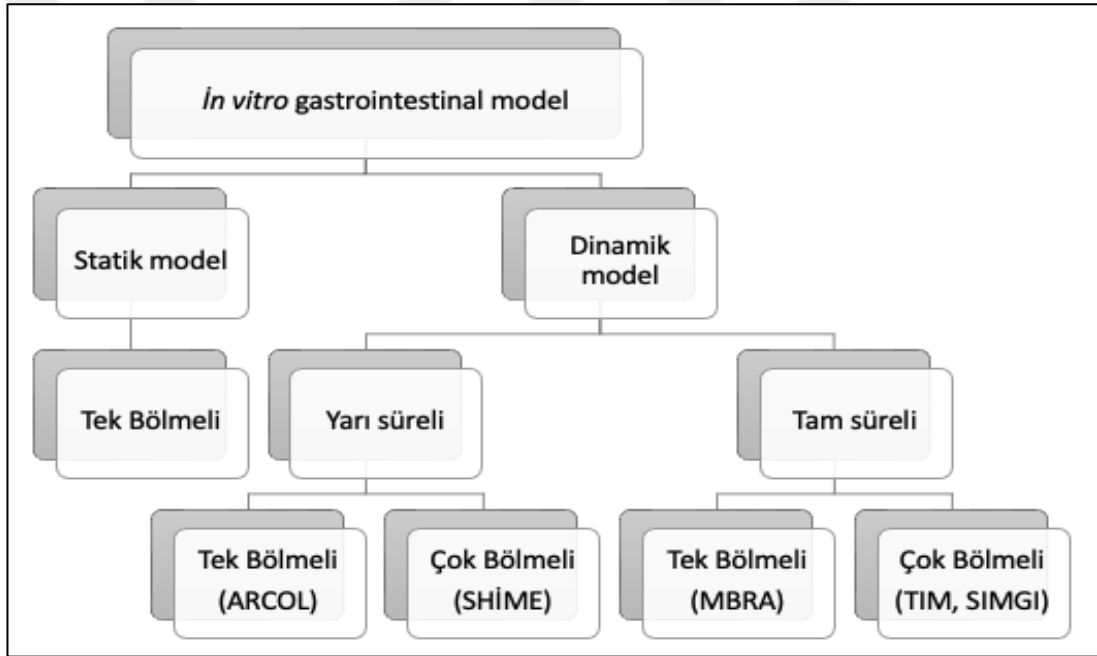
Sindirim modelleri, insan sağlığı için yeni besin ürünleri tasarlamak, incelemek ve değerlendirmek için kullanılabilecek araçlardır (21). Sindirim çalışmalarında kullanılmak üzere 1990'lı yıllardan itibaren *in vitro* sindirim modelleri geliştirilmiştir (2). İnsan beslenme çalışmaları, diyetle ilgili soruları ele almak için hala "altın standart" olarak görülse de *in vitro* yöntemlerin daha hızlı, daha ucuz, daha az emek yoğun olması ve etik kısıtlamalara sahip olmaması gibi avantajları bulunmaktadır. *In vitro* modeller, *in vivo* çalışmalara kıyasla kullanılan standart koşullar nedeniyle hızları, maliyetleri ve tekrarlanabilirlikleri nedeniyle besin, beslenme ve tıbbi araştırmalarda tercih edilebilmektedir (2,21).

Çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarla ilişkili veya insan ve hayvanların sindirim sistemlerinden elde edilen karmaşık mikrobiyal toplulukların *in vitro* incelenmesi için farklı gastro intestinal sistem modelleri geliştirilmiştir (88). Özellikle son yıllarda tek statik sistemlerden çok bölmeli dinamik sistemlere kadar çok sayıda *in vitro* sindirim modeli geliştirilmiş ve *in vivo* besinlerin sindiriminin incelenmesinde alternatif bir araç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (20). Besinlerin sindirim davranışını anlamaya yönelik önceki ve yeni girişimlerin çoğu, su banyosunda çalkalama, hava banyosunda rotasyon ve pH istatistiği gibi statik araçlar kullanmıştır (17). Bu statik modeller, gastrointestinal kanalının farklı bölümlerinde tek bir biyokimyasal koşullar kümesini (yani sıcaklık, enzimler, pH ve safra tuzları) yeniden yaratan bir dizi karıştırılmış kap kullanarak mide ve/veya bağırsağı simüle etmektedir (21). Bununla birlikte, *in vitro* statik protokoller için büyük bir endişe kaynağı, farklı bireysel modeller arasındaki sindirim parametrelerinin kullanımındaki önemli farklılıklardır. Parametreler temel olarak her bir sindirim adımının pH'ını ve süresini, kullanılan sindirim enzimlerinin miktarı ve tipini, karıştırma/çalkalama hızını, besin numunesi miktarını vb. içermektedir. Bu farklılıklar, sonuçları araştırma grupları arasında karşılaştırma ve genel bulgular çıkarma olasılığını engellemektedir. Çeşitli besin bileşenlerinin sindirilebilirliğini değerlendirmek için statik *in vitro* modellerin geniş uygulamalarına rağmen, sindirim fizyolojisini aşırı basitleştirmekte, sindirim sürecinin dinamik yönlerini, özellikle de sürekli karıştırılan bir dizi sert beher içindeki mekanik kuvvetleri ve akışkan dinamiğini taklit etmekte başarısız olmaktadır (17). Bu nedenle, statik modeller esas

olarak mekanik çalışmalar ve tarama amaçlı spesifik uygulamalarla hipotez oluşturma için kullanılmaktadır. Statik modeller, birçok deneysel koşulu ve çok sayıda numuneyi değerlendirmek için pratik, ucuz ve uygulanabilir seçenekler olabilir; bununla birlikte dinamik modeller, *in vivo* koşullara en yakın olanlardır (2). Besin sindiriminde substrat-enzim oranı, pH profilleri ve sindirilmiş ürünlerin taşınması önemli parametrelerdir. Bu nedenle, dinamik ve mekanik eylemlerden yoksun olan *in vitro*, statik modellerle karşılaştırıldığında dinamik modeller, sindirilmiş öğünlerin taşınması, sindirim sıvılarının sürekli salgılanması, değişken enzim konsantrasyonları ve *in vivo* koşullarda meydana gelen zaman içindeki pH değişiklikleri gibi sindirimin dinamik yönlerinin simülasyonuna olanak tanımaktadır (21). Bu nedenle son yıllarda tek bölmeli sistemlerden çok bölmeli sistemlere kadar daha karmaşık dinamik *in vitro* sindirim modelleri geliştirilmiştir (17).

Dinamik modeller genellikle mide ve ince bağırsak bölmelerine sahiptir, ancak çok azı kolonu içermektedir. Dinamik modeller pH, enzim salgılanması, peristaltik kuvvetler ve mikrobiyal fermentasyondaki değişimi sürekli olarak simüle edebilmektedir. Tüm dinamik *in vitro* modeller, sindirim sisteminin mekanik, kinetik ve kimyasal fizyolojik koşullarını tamamen taklit edememektedir. Bazıları yalnızca kimyasal koşulları simüle eder, bazıları öncelikle mekanik koşullara odaklanır ve çok azı tüm mekanik, dinamik ve kimyasal koşulları içermektedir (2). Ayrıca, konaki-mikrobiyal etkileşimin karmaşık doğası nedeniyle *in vivo* alışmalar ile bu etkileşimin belirli mekanik yönlerini çıkarmak zordur. Öte yandan, *in vivo* probiyotik araştırmaları genellikle faydalı mikroorganizmaların dışkından geri kazanılmasına odaklanmaktadır, bu da probiyotiklerin gastrointestinal geçiş üzerindeki davranışlarını gözlemlemeyi zorlaştırmaktadır. Bu durum probiyotik çalışmalarında, konaki ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki karmaşık etkileşimlerin anlaşılmasına yardımcı olacak kolay uygulanabilir *in vitro* sistemlerin önemini göstermektedir (88). Yapay sindirim modelleri aynı zamanda daha hızlıdır, uygulanması kolaydır ve daha az etik kaygıya sahiptir. Statik ve dinamik sindirim modelleri olmak üzere iki farklı *in vitro* sindirim modeli geliştirilmiş ve araştırma amaçlı kullanılmıştır. Genel olarak statik sindirim sistemlerine yönelik protokoller, besinin her bir sindirim bölümünün enzimatik, fiziksel ve kimyasal koşullarının yeniden yaratıldığında biyoreaktörlerde

tanımlanmasını sağlamaktadır. Ancak sindirim dinamik bir işlem olduğundan bu sindirim modellerinin sınırlamaları bulunmaktadır. Bu sistemlerde sindirimin farklı kısımları arasında besin değiştirme imkânı yoktur ve enzimler, safra konsantrasyonları ve pH gibi çevresel koşullar stabildir. Dinamik sindirim modelleri, sürekli biyolojik ve kimyasal değişikliklerin olduğu fiziksel koşullar gibi daha iyi simülasyon avantajlarına sahiptir. Genel olarak dinamik sindirim modelleri, tam simülasyon için gastrointestinal sistemin tüm bölümlerini taklit etmektedir. Dinamik sindirim sistemleri arasındaki temel fark konfigürasyondur (47). Ayrıca, ortam besleme ve kullanılan ortamın dışarı akış hızına (aralıklı veya sürekli) bağlı olarak dinamik bir model, yarı sürekli ve sürekli tiplere ayrılabilir (89) (Şekil 4).



Şekil 4. Besin temini ve çıkışları gözönüne alınan *in vitro* gastrointestinal modeller (89)

2.3.6.1 *In vitro* gastrointestinal model (TIM)

In vitro gastrointestinal model (The *in vitro* gastrointestinal model-TIM), 1990'ların başında TNO Beslenme ve Gıda Araştırma Merkezi'nde (Zeist, Hollanda) geliştirilmiş, bilgisayar kontrollü en eski dinamik sistemlerden biridir. TIM sistemi, insan sindirimini ve kalın bağırsığı taklit eden eksiksiz bir gastrointestinal sistem

olarak çalışmaktadır (89). Sistem, kasılmalar, geçiş süresi, pH, sindirim sıvılarının bileşimi ve salgılanma hızı, besinlerin ve suyun emilimi gibi zamana ve konuma göre değişen temel fizyolojik koşulları tekrarlanabilir ve kontrol edilebilir bir şekilde simüle etmeyi amaçlamıştır. Sistemde bilgisayar simülasyonları, geçerli *in vivo* verilerle hazırlanmış protokolleri kullanmıştır (2). TIM sistemi mide, duodenum, jejunum ve ileum koşullarını simüle eden bilgisayar kontrollü dört cam üniteden oluşmaktadır (17). Her ünite, duvarların genişlemesine ve büzülmesine izin vermek için esnek bir iç membrana sahip bir cam cekete sahiptir. Cam ceketlerden pompalanan suyun basınçları ve sıcaklığı, peristaltik kasılmaları ve vücut sıcaklığını simüle etmek için ayarlanabilmektedir. Her üniteyi bağlamak için peristaltik valfler kullanılabilir. Bilgisayar simülasyonu, sindirilmiş besinin bölmeler içinden ve arasında akışını kontrol etmektedir (2). Mide, safra ve pankreas salgıları bilgisayar kontrollü pompalar tarafından sağlanır. Su, sindirilmiş ürünler gibi küçük moleküller, içi boş fiber membran üniteleri aracılığıyla diyalizatların pompalanmasıyla TIM'in jejunum ve ileumundan uzaklaştırılmaktadır (17). TIM işleminin mikrobiyal kararlı duruma ulaşması daha az zaman almakta ve bilgisayar kontrollü olduğundan sonuçlar yüksek oranda tekrarlanabilir (standart sapma < %10), dışkı numunesi kullanılarak birden fazla fermente numune karşılaştırma için paralel olarak çalıştırılabilir olması sistemi klinik araştırmalara uygun hale getirmektedir (89). TIM, yetişkinlerde besinlerin sindirimi, bileşiklerin salınması ve çeşitli besin maddelerinin ve ilaçların emilimi ve tokluk ve açlık durumunda dozaj formları için kullanılabilirliği açısından doğrulanmıştır (90). TIM, başarılı *in vitro* dinamik sistemlerden biridir ve besinlerin ve ilaç bileşenlerinin salım ve absorpsiyon davranışlarını araştırmak için besin ve farmakoloji araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (89). Ayrıca TIM süt, fermente süt veya sıradan yiyeceklerin farklı besin matrislerini test etme olanağıyla birlikte probiyotik türlerinin hayatta kalma oranlarını izlemek ve karşılaştırmak için kullanılabilir (91).

2.3.6.2 İnsan bağırsak mikrobiyal ekosisteminin simülatörü (SHIME®)

İnsan bağırsak mikrobiyal ekosisteminin simülatörü (Simulator of the human intestinal microbial ecosystem-SHIME®), Belçikanın Ghent Üniversitesinde

gastrointestinal sistemin mikrobiyal ekosistemini simüle etmek için geliştirilmiştir (2). SHIME, tüm gastrointestinal sistemi (ağız hariç) entegre eden ilk çok bölmeli *in vitro* sindirim sistemidir (89). Sırasıyla mide, ince bağırsak, çekum/çıkan kolon, transfer kolon ve inen kolonu simüle eden, 37 °C’de tutulan beş adet çift ceketli biyoreaktörden oluşmaktadır (92). SHIME’nin ilk iki reaktör kabı, mide ve ince bağırsaktaki gıda alımını ve sindirimini simüle etmek için doldur ve çek prensiplerine dayanmaktadır. Son üç kap, süspansiyonların manyetik karıştırıcılar yardımıyla sürekli olarak karıştırıldığı tank reaktörleridir. Farklı kaplar arasında gaz alışverişi yoktur ve anaerobik koşulları sağlamak için kültür sisteminin üst kısmından her reaktöre sürekli olarak N₂ geçirilmektedir (17). SHIME modeli, tüm gastrointestinal sistem geçişi sırasında probiyotik bakteriler üzerindeki etkileri incelemek için geliştirilmiştir. SHIME, insan fekal materyali ile aşılmıştır. Probiyotiklerin, prebiyotiklerin ve simbiyotiklerin, gastrointestinal sistemin çeşitli bölümleri (ince bağırsak, kalın bağırsak) üzerindeki etkilerini incelemek için kullanılmıştır (11). *In vivo* çalışmalarla karşılaştırıldığında, SHIME daha tekrarlanabilir sonuçlar sağlamakta ve mekanik çalışmalar için çeşitli parametrelerin kontrol altına alınmasına olanak tanımaktadır. Ancak aşırı basitleştirilmiş bir model olarak, metabolitlerin emilim mekanizmalarını, mikrobiyotadaki kolonizasyonun etkilerini, bağışıklık sistemini ve mikroorganizmaların reaktör kaplarına ve borularına yapışmasını hesaba katmamaktadır (17).

2.3.6.3 Tasarlanmış mide ve ince bağırsak sistemi (ESIN)

Auvergne Üniversitesi’nde (Clermont-Ferrand, Fransa) mide ve ince bağırsak (Engineered stomach and small intestinal-ESIN) sistemi geliştirilmiştir. Bu dinamik sistemin, TIM ve SHIME gibi karmaşık ve kullanışlı modellerin bazı sınırlamalarının üstesinden gelmeyi amaçladığı rapor edilmiştir. Mide girişinde gerçekçi boyutta partiküller ile gerçek besin bolusunun yakın bir taklidi yerine öğütülmüş besin kullanılması ve *in vivo* görülen midede sıvıların ve katıların farklı boşalmasını temsil etmemesi kısıtlamalar olarak ifade edilmiştir. Bu dinamik model, mide bölümü için patentli (W02009087314 A1) bir tasarım içermektedir. ESIN modelinde altı reaktör; tükürük kabı, mide, ince bağırsak, duodenum, jejunum ve ileum segmentleri

bulunmaktadır. Yiyecek parçacıkları, yemek haznesi yoluyla yavaş yavaş mideye iletilmektedir. Katı parçacıklar pilordan ancak boyutları 1-2 mm'ye düşürüldüğünde geçebilmektedir. Küçük partiküllerin (<2 mm) ve sıvıların ikinci kaba geçişi, mide kabının içindeki bir girinti ile sağlanmaktadır. İki mm'den büyük katı parçacıklar, daha fazla sindirim için mide damarında kalmaktadır. Sıvılar ve katı parçacıklar, ayrı ayrı üstel bir modeli takip edecek şekilde programlanmış iki peristaltik pompa tarafından boşaltılmaktadır. Katı fraksiyonlar 30 dk'lık bir gecikme fazına sahipken, sıvı fraksiyonlar üstel modeli gecikme aşaması periyodu olmadan takip etmektedir. *In vivo* veriler, sıcaklığı, pH değerlerindeki değişiklikleri, salgıların akış hızlarını, alıkonma sürelerini ve sindirim sistemindeki besinlerin emilimini simüle etmek için kullanılmaktadır.

2.3.6.4 *In vitro* dinamik sistem (DIDGI®)

In vitro dinamik sistem, (*In vitro* dynamic system-DIDGI®) Fransız Ulusal Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde (INRA, Rennes, Fransa) geliştirilen dinamik sindirim sistemidir. Bu sistem, sindirim sıvılarının ve enzimlerinin sürekli eklenmesine, pH'ın aşamalı olarak ayarlanmasına ve önceden belirlenmiş oranlarda mide boşalmasına olanak tanımaktadır (93). İki cam ceketli reaktör, mide ve ince bağırsak simüle etmektedir. Ceketlerin, sıcaklık kontrollü su banyosundan pompalanan suyla sağlanmaktadır. İnsanlarda pilorun eleme etkisini taklit ederek mide ve bağırsak kompartımanı arasına transfer pompasının önüne 2 mm delikli bir teflon membran yerleştirilmektedir. Her bölme için sıcaklık, pH, yemeğin akış hızı, sindirim salgıları ve boşalma hızı, *in vivo* gözlemlerden elde edilen verilerle tasarlanan bilgisayar simülasyonu ile kontrol edilmektedir (2).

2.3.6.5 Gastrointestinal sistem simülatörü (Simgi®)

Gastrointestinal sistem simülatörü (Simulator of the gastrointestinal tract-Simgi®) dinamik bir simülatördür. Gıda Bilimi Araştırma Enstitüsü'nde (Madrid, İspanya) mide ve ince bağırsakta sindirim sırasında meydana gelen fizyolojik süreçleri simüle etmenin yanı sıra kalın bağırsakta metabolik biyodönüşümlerden

sorumlu kolon mikrobiyotasını yeniden üretmek için tasarlanmış, bilgisayar kontrollü bir gastrointestinal *in vitro* modeldir (94). Simgi®, birlikte veya bağımsız olarak çalışabilen mide, ince bağırsak, çıkan kolon, transvers kolon ve inen kolon bölgelerini simüle eden birbirine bağlı beş bölmeden oluşmaktadır. Mide, mide içeriğinin peristaltik hareketlerle karıştırıldığı, iki bölmeye bölünmüş esnek silikon duvarlı bir rezervuarı kaplayan silindirik şeffaf metakrilat plastik bir modülden oluşmaktadır. Peristalsis, plastik modüller ile rezervuar arasındaki ceketten akan suyun basıncı değiştirilerek elde edilmektedir, bu ayrıca mide içeriğinin sıcaklığını 37 °C’de tutmayı sağlamaktadır. Mide bölmesinde deneysel besin bileşenlerinin, mide suyunun ve asidin girişi için farklı portlar bulunmaktadır. Diğer 4 ünite, manyetik bir karıştırıcı aracılığıyla sürekli olarak 150 rpm’de karıştırılan çift ceketli cam reaktör kaplarından oluşmaktadır (95). Sistem, biyokimyasal ve mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirmek için bölmelerin her birinde toplama noktalarına sahiptir. Bu sistem, mide ve ince bağırsak bölümleri için peristaltik kasılmaları ve kimus geçiş davranışını birleştirmektedir (2). Akış hızları, bölme hacimleri, pH, sıcaklık ve basıncın tümü programlanabilir panel aracılığıyla bilgisayarla kontrol edilmektedir; ayrıca sistem, pompalanan hacimler, sıcaklık ve pH gibi çevrimiçi izlenen değerleri tüm süreç boyunca saklanmaktadır (95).

Kolon fermentasyonunda SIMGI, SHIME’ye benzer, çünkü her iki sistemde de mikrobiyal aşı, herhangi bir diyet fermentasyonuna başlamadan önce sabit bir duruma ulaşmak için besleyici ortamın sabit akışıyla stabilize edilmektedir. Fermentasyon sırasında sıcaklık ve pH gibi çeşitli parametreler otomatik olarak kontrol edilmekte ve anaerobik koşulları korumak için nitrojen gazı yıkanmaktadır. SHIME’ın aksine SIMGI sistemi, insan vücuduna benzer şekilde diyet maddesini mide sıvılarıyla karıştırmak için peristaltik hareket kullandığından *in vitro* sindirim süreci açısından daha karmaşıktır (89). SIMGI ayrıca, bir hastadan elde edilen disbiyotik mikrobiyotanın sistemde stabilize edildiği, yetersiz beslenme veya obezite veya inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi herhangi bir patolojik durumla ilişkili disbiyotik mikrobiyotayı incelemek için de kullanılabilir (94). Ayrıca, en yeni sistemlerden biri olan SIMGI hala gelişmektedir ve örneğin polifenoller açısından zengin diyet maddelerini, narenciye pektininin prebiyotik potansiyelini, lipid

biyoerişilebilirliğinde prebiyotik kaynaklı azalmayı ve mikroplastığın insan bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisini incelemek için başarıyla kullanılmaktadır (89).

2.3.6.6 Dinamik mide modeli (DGM)

Dinamik mide modeli (Dynamic gastric model-DGM) Gıda Araştırma Enstitüsü'nde (Norwich, İngiltere) geliştirilmiştir. Huni şeklinde veya koni şeklinde bir cihazla (~800 mL) fundus ve antrumun insan mide bölmesini simüle etmek için tasarlanmış, bilgisayar kontrollü, tek bölmeli bir modeldir (17). Sadece mideyi simüle eden bu model gerçek boyutta çiğnenmiş yemekleri işleyebilir ve karıştırma, yemeklerin geçişi ve midede gözlenen kuvvetler gibi fizyolojik durumları simüle etmektedir (2). Fonksiyonel olarak fundus/ana gövde (midenin proksimal kısmı, üst kısım) ve antrum (midenin distal kısmı, alt kısım), besin bolusuna uygulanan mekanik kuvvetler açısından belirgin şekilde farklılık göstermektedir. DGM'nin sert fundusu ve esnek ana gövdesi içinde, besin bolusu, ana gövdeyi çevreleyen 37 °C'lik su ceketinin döngüsel basınçlandırılmasından kaynaklanan hafif ritmik peristaltik kasılmalar tarafından üretilen düşük fiziksel güce maruz kalmaktadır (17). Modelde, besin parçacıklarının parçalanması, sabit bir dış ve hareketli iç tüp ile elde edilmiştir. Asit, tuz ve enzimlerin sıcaklık, geçiş süresi ve akış hızları kontrol edilmektedir ve istenen fizyolojik hızlara ayarlanabilmektedir. Sistemde zaman içinde antrumdan gelen numunelerden elde edilen verilerin toplanması ile boşaltma profilleri, partikül boyutu küçültme ve kütle transfer verileri elde edilebilmekte ancak peristaltik hareket tam olarak simüle edilememektedir (2). DGM, antrum kısmındaki güçlü mekanik işlemenin dâhil edilmesi sayesinde gerçek zamanlı olarak katı besinlerin mide sindirimi ve parçalanmasının yanı sıra boşaltılmasını da taklit edebilmektedir. Bu nedenle besin ve farmasötik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. DGM, mide sindirimini ve parçalanmasını taklit edebilmektedir. *In vivo* sıvı dinamiği ve mide içeriğinin dağılımı, ana gövdenin ve antrumun *in vivo*'dan tamamen farklı dikey hizalanması nedeniyle kopyalanamaktadır. Ayrıca antral işleme sırasında DGM antrumunun şeffaf olmaması nedeniyle görsel gözlem yapılması mümkün olmamaktadır (17).

2.3.6.7 İnsan mide simülatörü (HGS)

İnsan mide simülatörü (Human gastric simülatör-HGS), California Üniversitesi, Davis, ABD’de tasarlanmıştır. Model, insan midesinin alt kısmında üretilen antrum kasılma dalgalarının peristaltik aktivitesini niceliksel olarak simüle etmek için özel olarak tasarlanmıştır. Antrum kasılma dalgalarının, sindirim sırasında mide içeriğinin parçalanmasına ve karıştırılmasına katkıda bulunan güçlü mekanik kesme ve öğütme kuvvetleri oluşturmada önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. HGS temel olarak lateks kauçuktan yapılmış yuvarlak silindirik bir mide bölmesi, mekanik tahrik cihazı, mide salgılama cihazı ve sıcaklık kontrolü için yalıtımlı plastik köpük odasından oluşmaktadır (17). Lateks mide damarı, besin ve sindirim sıvıları ile doldurulabilir ve bir motor düzeneği tarafından yönlendirilen 12 silindir tarafından peristaltik kasılmalar oluşturulmuştur. Salgıların akış hızları ve sıcaklık ayarlanabilir ve mide içeriği, *in vivo* koşulları simüle eden pilor yoluyla boşaltılabilmektedir (2). HGS’deki mide içeriğinin dağılımı yerçekimine bağlıdır, bu da ters konik mide odasının tabanında büyük miktarda mide sindiriminin birikmesine neden olmaktadır. Bu, yutulan katı besinlerin başlangıçta proksimal midede depolandığı ve daha sonra yavaş yavaş distal mideye doğru hareket ettiği gerçek “J-şekli” midede gözlemlenen besin dağıtımıyla çalışmaktadır. Ayrıca HGS, insan midesinin gerçek şeklini tam olarak taklit edememektedir (17).

2.3.6.8 İnsan mide sindirim simülatörü (GDS)

Bu insan mide sindirim simülatörü (Human gastric digestion simülatör-GDS), Tsukuba Üniversitesin’de antrum simüle etmek için tasarlanmıştır (17). Bir mide bölmesi, bir silindir sistemi ve besinleri parçalanma mekanizmasını görüntülemek için şeffaf pencereye sahip, sıcaklık kontrol sisteminden oluşmaktadır (2). Gastrik damarın kolektif toplam hacmi 550 mL’dir ve paralel şeffaf pencereler, niceliksel olarak simüle edilmiş peristaltik kasılmaların varlığında mide içeriğinin parçalanmasının doğrudan gerçek zamanlı gözlemlenmesine olanak tanıyan şekilde donatılmıştır (17). Büyük besin parçacıkları, simüle edilmiş antrum peristaltik kasılmaları ve biyokimyasal reaksiyonların neden olduğu fiziksel kuvvetin birleşik

eylemleri nedeniyle daha küçük parçacıklara parçalanabilmektedir. Mide damarı içindeki ve etrafındaki sıcaklığı otomatik olarak 37 °C’de tutmak için şerit ısıtıcı ve sıcaklık sensöründen oluşan bir sıcaklık kontrol sistemi kullanılmaktadır. GDS’nin en önemli avantajı, kontrol edilebilir mide peristaltizmi ile mide sindirim davranışlarının gerçek zamanlı olarak doğrudan gözlemlenmesinin birleşimidir. Katı besinlerin simüle edilmiş gastrik parçalanmasının avantajına ve başarılı uygulamasına rağmen, GDS, gastrik sindirimi ve ardından gelen besin salınımını önemli ölçüde etkileyebilecek mide sindirimini boşaltılmasını taklit edememektedir.

GDS’de HGS gibi ters konik şekle sahiptir. Bu *in vitro* sistemlerde katı veya yarı katı besinler yer çekiminin etkisiyle ters konik boşlukta istiflenmektedir ve mide duvarındaki peristaltik dalgalar yardımıyla birlikte boşalmasına sebep olmaktadır. Bu, daha ağır katı besinlerin mide sindirimini gecikme fazı gibi benzer mide dağılımlarını ve boşalma modellerini yeniden üretemediklerini göstermektedir. Bununla birlikte, katı besinler için gözlemlenen gecikme aşaması, probiyotikler gibi katı besinlerin matrisindeki birçok aktif bileşenin mide asidine ve mide enzimlerine duyarlı olması nedeniyle, insan midesindeki yarı katı besin sindirimini değerlendirilmesi açısından çok önemli olabilmektedir. Sonuç olarak, gerçek *in vivo* deneylerden elde edilen probiyotiklerin hayatta kalma oranları, *in vitro* mide modelleriyle elde edilen değerlerden önemli ölçüde farklılık gösterebilmektedir (17).

2.3.6.9 Yapay mide sindirim sistemi (AGDS)

Yapay mide sindirim sistemi (Artificial gastric digestive system-AGDS), Zhejiang Gongshang Üniversitesi (Zhejiang, Çin) Gıda Bilimi ve Biyoteknoloji Okulu’nda geliştirilmiştir. Silikon mide modelinde 3D baskı teknolojisi kullanılarak mide duvarının boyutu, şekli ve kıvrımları oluşturulmaktadır. Midenin peristaltik kasılmaları, iki set simetrik silindir ve bir set zıt silindir tarafından üretilmektedir. Bir bilgisayar programı kuvvetleri, sıcaklığı, pH’ı, mide suyu salgılarını ve mide boşalmasını kontrol etmektedir. Silikon midenin dış duvarına uygulanan mekanik kuvvetler, kimus tarafından deneyimlenen kuvvetleri tahmin etmek için bir doku analizörü ile ölçülmüştür (2).

2.3.6.10 Yapay kolon (ARCOL)

Yapay kolon (Artificial colon-ARCOL), insan kolon ortamını simüle eden sıcaklık ve pH kontrolü ile donatılmış tek bir biyoreaktördür (Applikon, Schiedam, Hollanda). Sistemde sıcaklık ve pH, sırasıyla çift ceketli su banyosu ve NaOH kullanılarak korunmaktadır. Reaktörde sağlıklı gönüllülerin dışkıları kullanılmaktadır. Başlangıçta anaerobik ortamı korumak için nitrojen gazı kullanılır, ancak daha sonra anaerobik durum mikrobiyal fermantasyonun kendisi tarafından korunmaktadır (89). Modelde 37 °C sıcaklık, 6.3 pH ve 36 saatlik ortalama tutma süresi kullanılmıştır. Elektrolit ve metabolit konsantrasyonlarını *in vivo* olarak simüle etmek için içi boş fiber membranlara (cut-off 30 kDa) sahip bir diyaliz sistemi kullanılmaktadır (2). ARCOL sistemi, konakçı kolonun ortamını simüle eder ve nitrik oksidin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisini incelemek için probiyotik canlılığı ve bunların bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri gibi birçok çalışmada kullanılmıştır (89).

2.3.6.11 Mini biyoreaktör dizisi (MBRA)

Mini biyoreaktör dizisi (Mini bioreactor array-MBRA), dışkı mikrobiyotasını incelemek için tasarlanmış basit, küçük hacimli (15 ml) bir biyoreaktördür. Ek olarak MBRA, aynı anda 48 kopya veya 48 biyoreaktör üzerinde çalışılabildiği için yüksek verimli bir biyoreaktördür, böylece maliyet ve zaman azaltmakta ve birden fazla tedaviyi aynı anda değerlendirme özgürlüğü sağlamaktadır. Anaerobik durumu korumak için MBRA, 37°C'de anaerobik oda şartlarında (%5 CO₂, %5 H₂ ve %90 N₂) çalışmaktadır. MBRA ortamı, daha yüksek mikrobiyal gelişmeyi desteklemek için çeşitli nitrojen ve karbon kaynakları içerir, ancak aynı zamanda aşırı metabolitlerin birikmesine de yol açabilmektedir. Fermantasyon için, çalıştırmadan 3 gün (~72 saat) önce, ortam anaerobik bölmenin içine yerleştirilmektedir ve anaerobik koşulla dengede olmasına izin verilmektedir. Bulgular fare deneylerinden elde edilen sonuçlara benzer olduğundan MBRA sistemi çeşitli *Clostridium difficile* çalışmalarında başarıyla kullanılmaktadır. Bunun dışında MBRA sistemi, bağırsak mikrobiyotasının polifenolün neden olduğu artan sitotoksik nötrleştirme yeteneğini

incelemek için de kullanılmaktadır (89). *In vitro* sindirim modelleri çeşitli parametreler açısından birbirinden farklılık göstermektedir (20). Örneğin dinamik modellerden TIM, SHIME, ESIN, DIDGI ve SIMGI, birbirine bağlı modüller olarak hem mide hem de ince bağırsak bölmelerini simüle etmektedir. SHIME ve SIMGI modelleri ayrıca ince bağırsağa bağlı kalın bağırsağın fermentasyonunu simüle etmektedir (2). TIM gastrointestinal sistem modeli bilgisayarlı sofistike modeldir, sindirilmiş öğünlerin taşınması, değişken enzim konsantrasyonları ve zamanla pH değişiklikleri gibi sindirimin dinamik yönlerinin simülasyonuna izin vermektedir (21). ESIN modelindeki yemek bölmesi, yemeklerin mideye aşamalı olarak gerçekçi boyutta partikül karışımları olarak iletilmesine izin vermektedir. DIDGI, sindirilen besinlerin ince bağırsakta emilimini simüle etmek için TIM ve ESIN gibi bir diyaliz sistemine sahip değildir. Diğer grup, DGM, HGS, GDS ve AGDS, sadece midenin mekanik, dinamik ve kimyasal koşullarını simüle etmeyi amaçlayan modellerdir. Mideyi simüle eden bu başarılı ve sofistike modellerin farklılıkları bulunmaktadır. DGM modeli, mekanik kuvvetlerin piston ve namlu kullanılarak temsil edilmesine odaklanmış, ancak midenin peristalsis ve dinamik koşulları dikkate alınmamıştır. GDS modeli, pencereci tasarımı sayesinde sindirim sırasında mide içeriğinin izlenmesine olanak tanınmaktadır. AGDS sistemlerinde mide geometrisi gerçeğe çok yakın modelidir. Son olarak, ARCOL sadece kalın bağırsakta fermentasyonu simüle eden bir reaktördür (2).

Bu çalışmada kullanılan model, mide ve ince bağırsaktaki olayları daha iyi simüle etmek için geliştirilmiştir. Bununla birlikte, mevcut tasarım, bakterilerin epitel hücrelerine veya mukusa yapışmasının test edilmesine izin vermez, yerleşik bakteri içermez ve hiçbir geri besleme mekanizmasına sahip değildir.

3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Araştırmanın Amacı ve Hipotezi

Bu araştırmada; ev tipi ve endüstriyel tip kefirlerin sahip oldukları başlangıç probiyotik karakterli laktik asit bakterilerinin sayısının tespit edilerek simüle gastrointestinal sistem boyunca canlılık durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Hipotezler;

Hipotez 1 H_0 : Kefirde bulunan probiyotik bakteriler kolona ulaşana kadar canlılığını yitirir.

Hipotez 2 H_1 : Kefirde bulunan probiyotik bakteriler kolona ulaşana kadar canlılığını ve aktivitesini sürdürür.

Hipotez 3 H_0 : Üç farklı kefirde probiyotik bakteri sayısı açısından birbirinden fark yoktur.

Hipotez 4 H_1 : Üç farklı kefirde probiyotik bakteri sayısı açısından birbirinden fark vardır.

3.2 Materyal

Araştırmada kullanılacak kefirlerin seçimi; kefir danesi ile üretilmiş ev tipi 5 kefir örneği, starter kültür kullanılarak üretilmiş 2 kefir örneği, piyasadan satın alınan endüstriyel olarak üretilmiş sade 5 kefir örneği olmak üzere toplam 12 farklı örnekten oluşmuştur.

Kefir danesi ve starter kültür kullanılarak üretilen kefirler için hammadde olarak kullanılan pastörize inek süt, Afyonkarahisar şehrinde bulunan zincir marketten aynı marka ve parti numaralı ürünler temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan α -amilaz, müsin, safra tuzu, pankreatin ve pepsin enzimleri Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD), $CaCl_2$, NaCl, $NaHCO_3$ ve NaOH AFG Bioscience'dan (Northbrook, IL, ABD), HCl Honeywell'den (Seelze, Almanya) ve KCl ise TEKKİM (Bursa, Türkiye)

'den temin edilmiştir. Anaerobentopf 2,5 l-Volumen, Microbiology Anaerocult A reagentı ve anaerobik ortam kontrolü için Anaerotest stripler Merck KGaA (Darmstadt, Almanya)'dan satın alınmıştır.

3.2.1 Endüstriyel kefir örnekleri (EK)

Piyasadan satın atılan ve ürün etiket bilgisi olarak 1×10^6 kob/g canlı probiyotik mikroorganizma içerdiklerini beyan eden 5 farklı endüstriyel kefir örnekleri Afyonkarahisar şehrinde bulunan zincir marketten aynı marka ve parti numaralı olacak şekilde temin edilmiştir. Endüstriyel kefir örnekleri marka ve ticari isim bildirilmeden A, B, C, D ve E olarak kodlanmıştır.

3.2.2 Starter kültür ile üretilen kefir örnekleri (SK)

Starter kültür ile üretilen kefir örnekleri içerisinde F firması olarak kodlanan Türkiye menşeli firmaya ait kültürün içeriği; *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens* subsp. *kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefiranofaciens* subsp. *kefirgranum*, *Lactobacillus parakefiri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis* şeklindedir. G firması olarak kodlanan Ukrayna menşeli firmaya ait kültürün içeriği; *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Kluyveromyces marxianus* subsp. *marxianus*, *Debaryomyces hansenii* şeklindedir.

3.2.2.1 Starter kültür ile üretilen kefir örneklerinin hazırlanması

Starter kültür ile üretilen kefir örneklerinin hazırlanması, starter kültür ürününün etiketinde yer alan kefir üretim talimatına göre pastörize süte eklenerek yapılmıştır.

Starter kültür oda sıcaklığındaki pastörize inek sütüne eklenmiş ve çalkalanmıştır. Fermantasyon amacıyla 24 saat 22 °C ölçülen oda sıcaklığında bekletilmiştir. Yirmi dördüncü saatin sonrasında yoğunlaşan kefir çalkalandıktan sonra +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Kefir üretimi Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Besin Kimyası Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.3 Kefir danesi ile üretilen kefir (KD)

Kefir daneleri Afyonkarahisar’da ikamet eden ve evlerinde düzenli kefir üreten 5 farklı kişiden temin edilmiştir. Farklı kişilerden temin edilen kefir danelerinin eşit koşulları taşıması amacıyla, 30 gün boyunca 1 gün üretim yapıp 1 gün dinlendirmek koşuluyla aynı ortam koşullarında geliştirilmiştir. Kefir daneleri H, J, K, L ve M olarak kodlanmıştır.

3.2.3.1 Kefir danesi ile üretilen kefir örneklerinin hazırlanması

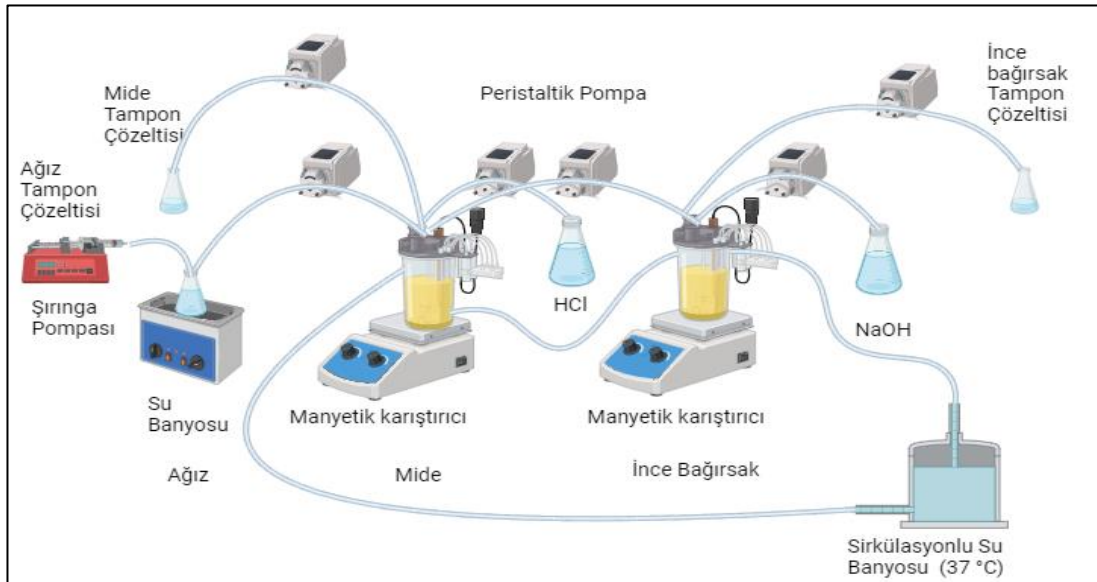
Kefir danesi ile üretilen ev tipi kefir örneklerinin hazırlanmasında; pastörize süte doğrudan kefir danesi ilave edilerek karanlık bir ortamda, 24 saat 22 °C ölçülen oda sıcaklığında fermantasyona bırakılmıştır. Yirmi dördüncü saatin sonrasında yoğunlaşan kefirden daneler steril plastik süzgeç yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Elde edilen kefir +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Kefir üretimi Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Besin Kimyası Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.3 Metot

3.3.1 Dinamik *in vitro* gastrointestinal sistem modelinin oluşturulması

Ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerini temsil etmek üzere 3 ardışık bölümden oluşturulmuştur. Ağız bölgesini 500 mL’lik cam beher, mide ve ince bağırsak bölümünü temsilen iki adet 500 mL silindirik çift ceketli reaksiyon kabı (Çalışkan

lab, Ankara, Türkiye) kullanılmıştır. Ağız bölgesini temsil eden beherin $37 \pm 0,1$ °C'deki sıcaklık kontrolü su banyosuyla (Daihan Scientific Ultrasonik Cleaner, Endonezya), çift ceketli reaksiyon kabı içindeki $37 \pm 0,1$ °C'deki sıcaklık kontrolü sirkülasyonlu su banyosuna (Eraktek, Konya, Türkiye) entegre edilerek sağlanmıştır. Biyoreaktörlerin çalışma sırasında pH ve sıcaklık (Mettler Toledo, Columbus, OH, ABD) değerleri anlık takip edilmiştir. Her çalışma öncesi pH metreler pH'sı 4.01 ± 0.01 ve 7.01 ± 0.01 olan buffer çözeltileri (Norateks, Türkiye) ile kalibre edilmiştir. Karıştırma hızı manyetik karıştırıcı (DLAB, İstanbul, Türkiye) ve manyetik balık (4 mm) ile kontrol edilmiştir. Dinamik *in vitro* gastrointestinal sistemden geçiş süresi; ağız bölgesinde 2 dk, mide bölgesinde 2 saat ve ince bağırsak bölgesinde 2 saat olmak üzere kontrol altında tutulmuştur. Simüle edilecek sindirim sistemi salgılarının akışını kontrol etmek ve sindirim sistemindeki işlemlere maruz kalması istenen örneğin ağızdan mideye, mideden ince bağırsağa geçişini sağlamak için hızları ayarlanabilir 6 adet peristaltik pompa kullanılmıştır. Bununla birlikte mide ve ince bağırsak bölümlerinin pH'larının sabit tutulmasını sağlamak amacıyla anlık pH takibi yapılarak gerekli hallerde 1M NaOH ve 0,2 M HCl kullanılarak pH dengesi sağlanmıştır. Enzim çözeltileri her çalışma öncesi her ürün için taze olarak hazırlanmıştır (Resim 2).



Resim 2. Dinamik *in vitro* gastrointestinal sistem model şeması

Geliştirilen dinamik *in vitro* gastrointestinal modelin ağız kısmına örnekler girdikten sonra şırınga pompası (NE-1000, New York, ABD) ile tükürük salgısı eklenmiştir. Tükürük salgısı 20 °C’de pH 6,9 sahip 2 g/L α -amilaz enzimi, 1 g/L müsin, 25 mL 0,3 M CaCl_2 ve 975 mL su ilave edilerek karıştırılmış ve ortamın pH’sı 2 dk boyunca sabit kalması sağlanmıştır. Simüle tükürük salgısı 0,05 ml/gr örnek olacak şekilde 5 mL/dk hızla ağız ortamına ilave edilmiştir. Enzim ile temas süresi 37 °C’de 2 dk olacak şekilde ayarlanmıştır.

Mide tampon çözeltisi; 2,2 g/L KCl, 6,2 g/L NaCl, 1,2 g/L NaHCO_3 , 0,22 g/L CaCl_2 ile hazırlanmıştır. Geliştirilen dinamik *in vitro* gastrointestinal modelin mide kısmında, mide salgısını simüle etmek için 3700 ppm/L pepsin enzimi ve 23 g/L müsin steril mide tampon çözeltisi içerisinde çözdürülmüştür. Simüle mide salgısı 0,05 mL mide salgısı/gr örnek olacak şekilde mideyi temsil eden reaktöre 0,25 mL/dk hızla ilave edilmiştir. Ağız ortamından ayrılan ve sindirime uğrayarak gelen örnek 100 mL/dk akış hızıyla mide ortamını temsil eden reaktöre geçtikten sonra, mide reaktörünün pH’ı 2,5’e ulaşana kadar geçiş hızı 3,5 mL/dk olarak 0,2 M HCl ilave edilmiştir. 1 saat içerisinde kademeli olarak pH’nın 2,5’e düşmesi sağlandıktan sonra 1 saat boyunca pH’nın 2,5’te sabit kalması için HCl asidin geçiş hızı gastrin inhibisyonunu simüle etmek için 0,9 mL/dk ile sağlanmıştır. Çift ceketli reaksiyon kabının sirkülasyonlu su banyosuna entegre edilerek sıcaklık 37 °C’de 2 saat sabit kalması sağlanmıştır. İnce bağırsak tampon çözeltisi; 0,6 g/L KCl, 5,0 g/L NaCl, 0,25 g/L CaCl_2 ile hazırlanmış, geliştirilen dinamik *in vitro* gastrointestinal modelin ince bağırsağın salgısını simüle etmek için 1 g/L pankreatin, 12 g/L safra tuzu konsantrasyonları ve 1M NaHCO_3 çözeltisi ince bağırsak tampon çözeltisi içerisinde çözdürülmüştür. Simüle ince bağırsak salgısı 0,05 mL ince bağırsak salgısı/gr örnek olacak şekilde ince bağırsağı temsil eden reaktöre 0,25 mL/dk hızla ilave edilmiştir. Mide ortamından ayrılan ve sindirime uğrayarak gelen örnek 100 mL/dk akış hızıyla ince bağırsak ortamını temsil eden reaktöre geçtikten sonra 15-20 dk. içerisinde kademeli olarak ortam pH’sının 6,5’a yükselmesi için 0,65 mL/dk geçiş hızında 1 M NaOH ilave edilmiştir. Sindirim işlemi sonuna kadar pH 6,5’te sabit kalması sağlanmıştır. Çift ceketli reaksiyon kabının sirkülasyonlu su banyosuna entegre edilerek sıcaklık 37 °C’de 2 saat sabit kalması sağlanmıştır (19) (Resim 3).



Resim 3. Dinamik *in vitro* gastrointestinal sistem model

3.3.2 Kimyasal analizler

3.3.2.1 Kuru madde miktarı tayini

Kefir örneklerinden 10 g dijital hassas terzide tartılarak (AND, ABD) etüvde (Mikrotest, Ankara, Türkiye), 105 °C’de sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. İşlem sonunda kaplar desikatörde soğutularak hassas tartım yapılarak kuru madde miktarı hesaplanmıştır (96).

3.3.2.2 Çözünür katı madde miktarı tayini

Çözünür katı madde içeriği (°Brix), 20°C’de bir el tipi refraktometre (Fukui, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür.

3.3.2.3 pH değerleri tayini

Örneklerin pH değerleri pH metre (Mettler Toledo, Columbus, OH, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Her kullanımdan önce pH metre pH’sı 4.01 ± 0.01 ve 7.01 ± 0.01 olan buffer çözeltileri (Norateks, Türkiye) ile kalibre edilmiştir.

3.3.2.4 Toplam kül miktarı tayini

Kefir numunelerinden 10 gr porselen krozelere tartılıp kül fırınına (Daihan FHX-14, Endonezya) yerleştirilmiştir. Sıcaklığı kademeli olarak 450 °C'ye çıkarılmıştır. Daha sonra beyaz küle dönüşene kadar 450 °C'de tutulmuştur. Sonuçlar % (w/v) olarak verilmiştir (97).

3.3.2.5 Titrasyon asitliği (% laktik asit) tayini

Erlenmayer flaskın (250 mL) içerisine 90 mL distile su ve 10 g kefir örneği eklenerek iyice karıştırılmıştır. Fenolfitaleyn çözeltisinden 3-5 damla eklendikten sonra 0.1 N NaOH (sodyum hidroksit) çözeltisi ile 30 saniye süreyle sabit pembe renk elde edilinceye kadar titre edilmiştir. Sonuç, titrasyon sonucunda harcanan değere göre laktik asit cinsinden hesaplanmıştır (98).

3.3.2.6 Yağ miktarı tayini

Kefir örneklerindeki yağ miktarı gerber yöntemi ile belirlenmiştir. Bu amaçla gerber süt bütirometresinin üzerine 10 ml H₂SO₄ (d=1,82 g/ml) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO ABD) konulup, üzerine önce 11 mL numune eklenmiş daha sonra üzerine 1 mL amil alkol ilave edilerek bütirometrenin ağzı lastik tıpayla kapatılarak, gerber santrifüjünde (Funke Gerber, Almanya) 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra bütirometre skalasından % olarak yağ miktarı tespit edilmiştir (99).

3.3.2.7 Protein miktarı tayini

Örneklerin protein içeriklerini tespit etmek amacıyla Kjeldahl metodu kullanılmıştır. Bu amaçla; 5 mL numune Kjeldahl tüpüne alınarak üzerine potasyum sülfat ve cıva oksitten oluşan katalist tabletler konulmuş ve H₂SO₄ ilavesiyle yakma işlemi yapılmıştır. Daha sonra sırasıyla distilasyon ve titrasyon işlemlerine geçilerek toplam azot değeri hesaplanmıştır. Belirlenen toplam azot değeri, protein faktörü (6,38) ile çarpılarak % protein değeri hesaplanmıştır (100).

3.3.2.8 DPPH radikal süpürme kapasitesi tayini

Metanolik 0,02 mM DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltisi hazırlanmıştır. Kefirden 200 µL alınıp üzerine 600 µL DPPH çözeltisi eklenip ependorflar içerisinde 30 dk süresince karanlık bir ortamda oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Aynı işlem kefir yerine saf su konularak blank ölçümü için yapılmıştır. Ardından tüm ependorflar santrifüj cihazında (Daihan, Endonezya) 9000 rpm’de 10 dk santrifüj edilip süpernatanttan 200 µL alınıp microküvetlere aktararak UV-Spektrofotometrede (Optizen, Kore) 571 nm’de ölçümü yapılmış ve absorbansı okunmuştur (79).

3.3.3 Mikrobiyolojik analizler

Kefir örneklerindeki canlı laktik asit bakteri sayıları (log kob/mL) *in vitro* gastrointestinal modele verilmeden hemen önce ağız 0. dk olarak belirlenmiştir. Kefir örnekleri dinamik *in vitro* gastrointestinal modelin ağız, mide ve ince bağırsak bölümünden geçerken verilen sürelerde mikrobiyal analizler için numuneler alınmıştır. Ağızdan 0. ve 2. dk’da, mide ve ince bağırsakta 0., 60. ve 120. dk’da 1 mL’lik örneklemeler alınarak canlı mikroorganizma sayımı yapılmıştır. Mikrobiyolojik ekimler yapılmadan önce 1/4 kuvvetinde ringer (Neogen Culture Media, Michigan, ABD) çözeltisi kullanılarak aseptik şartlar altında uygun desimal seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Seyreltme işlemi her kefir örneğinden 10 mL’nin 90 mL steril seyreltme çözeltisi kullanılarak 10⁻¹’lik (1/10) dilüsyon hazırlanmıştır. Seri dilüsyonlar hazırlandıktan sonra dilüsyonlardan 1 ml örnek steril petri kutularına alınarak üzerlerine besiyerleri eklenip 72 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.

Kefir örneklerinde *Lactobacillus* kültürlerinin gelişmesi ve sayımında MRS Agar (Neogen Culture Media, Michigan, ABD) besiyeri kullanılmıştır (19,101).

Lactococcus kültürlerinin gelişmesi ve sayımında %1 laktoz ilave edilmiş M17 Agar (Condalab Laboratorios, Madrid, İspanya) besiyeri kullanılmıştır (102).

3.3.3.1 *Lactobacillus* ve *Lactococcus* sayımı

MRS Dehidre besiyeri 68,2 g/L olacak şekilde saf su (Millipore Direct-Q3, Almanya) içinde ısıtılarak eritilmiş, otoklavda (NÜVE NC-90M, Ankara, Türkiye) 121 °C’da 15 dk sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası 45-50 °C’ye soğutulup, steril petri kutularına (Fıratmed, Ankara, Türkiye) dilüsyonlardan alınan 1 ml örnek üzerine 12,5 mL dökülmüştür. M17 Dehidre besiyeri 55,0 g/L olacak şekilde ısıtılarak saf su içinde eritildi ve otoklavda 121 °C ‘de 15 dk sterilize edilmiştir. Otoklav sonrasında 45-50 °C ‘ye soğutulup, steril petri kutularına dilüsyonlardan alınan 1 ml örnek üzerine 12,5 mL besiyeri dökülmüştür. Besiyerleri her çalışma için günlük taze hazırlanmıştır. Anaerobik ortam oluşturmak üzere Anaerobentopf 2,5 l-Volumen, Microbiology Anaerocult A rejanı ve anaerobik ortam kontrolü için Anaerotest stripler Merck KGaA (Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır.

Analiz dökme plak kültürel sayım yöntemi ile yapılmış ve inkübasyon anaerobik ortamda 37°C’de 72 saat gerçekleştirildikten sonra koloni sayım cihazı ile laktik asit bakterilerin sayımı gerçekleştirilmiştir (103). Kefir örneklerinin mikrobiyolojik analizleri koloni sayım cihazı (Isolab, Almanya) ile kültür sayım yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Belirlenen bakteri sayıları kob formülü ile koloni oluşturan birim (kob)/mL kefir olarak hesaplanmıştır (104). İnkübasyon sonunda besiyeri üzerinde gelişen 0,5 mm’den daha büyük koloniler sayılmıştır, hesaplama aşağıdaki formüle göre yapılmıştır (105).

$$N=C \div [V \times (n1 + 0,1 \times n2) \times d]$$

- N : Örnek Kefirin 1 mililitresindeki mikroorganizma sayısı
C : Sayımı yapılan tüm petri kutularındaki kolonilerdeki genel toplam
V : Sayımı yapılan petri kutularına aktarılan hacim (mL)
n1 : İlk seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan petri kutusu adedi
n2 : İkinci seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan petri kutusu adedi
d : Sayımın yapıldığı ardışık iki seyreltiden daha konsantre olanın seyrelme oranı

3.3.4 İstatiksel analizler

Araştırma aynı parti numaralı ürünler kullanılarak 2 tekerrür ve analizler 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Nümerik değişkenlerin normal dağılıma uygunluğunun kontrolü “Shapiro-Wilk Testi” ile yapılmıştır. Nümerik değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri normal dağılım gösteren veriler için ortalama±standart sapma ($\bar{X} \pm SS$), normal dağılım göstermeyen veriler için medyan (min-max) değerleri verilmiştir.

Normal dağılıma sahip olan bağımlı iki zaman karşılaştırılmasında “Bağımlı Örneklem T Testi”, normal dağılıma sahip olmayan bağımlı iki zaman karşılaştırılmasında “Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi” kullanılmıştır. Normal dağılıma sahip olan bağımsız ikiden fazla grup karşılaştırılmasında “Tek Yönlü ANOVA Testi”, normal dağılıma sahip olmayan bağımsız ikiden fazla grup karşılaştırılmasında “Kruskal-Wallis H Testi” kullanılmıştır. Normal dağılıma sahip olan bağımlı ikiden fazla zaman karşılaştırılmasında “Tekrarlı Ölçümler ANOVA Testi”, normal dağılıma sahip olmayan bağımlı ikiden fazla zaman karşılaştırılmasında “Friedman Testi” kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırma testlerinin sonuçları medyanların yanında harfli gösterim şeklinde ifade edilmiştir.

Ayrıca çalışmada tüm hesaplamalarda ve yorumlamalarda istatistik anlamlılık düzeyi “ $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$ ” olarak dikkate alınmış ve hipotezler çift yönlü olarak kurulmuştur. Verilerin istatistiksel analizi “SPSS versiyon 27 (SPSS 2020 - IBM Inc., Chicago, IL, ABD)” paket programında yapılmıştır.

4 BULGULAR

4.1 Kefir Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları

EK, SK ve KD kefir gruplarına göre kimyasal analizi sonuçlarının karşılaştırması Tablo 5'te verilmiştir. EK, SK ve KD kefir gruplarının kuru madde miktarı değerleri arasında ($H=29,988$; $p<0,001$), protein miktarı değerleri arasında ($H=26,840$; $p<0,001$), titrasyon asitliği değerleri arasında ($H=18,058$; $p<0,001$) ve çözünür katı madde miktarı değerleri arasında ($H=32,583$; $p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir. Diğer tüm kefir analizi değerleri arasında anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).

Kuru madde miktarı açısından KD kefir grubunun [11,28 (11,02-11,62)] ortancası ve SK kefir grubunun [11,27 (11,06-11,44)] ortancası, EK grubu [10,15 (8,74-10,73)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Protein miktarı açısından EK grubunun [2,79 (2,54-3,01)] ortancası, SK kefir grubunun [2,32 (2,01-2,90)] ortancasına ve KD kefir grubunun [2,01 (1,55-2,45)] ortancasına göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca SK kefir grubunun [2,32 (2,01-2,909)] ortancası da KD kefir grubunun [2,01 (1,55-2,45)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

Laktik asit cinsinden titrasyon asitliği değerleri incelendiğinde SK kefir grubunun [0,87 (0,81-0,96)] ortancası, EK kefir grubunun [0,81 (0,74-0,92)] ve KD kefir grubunun [0,76 (0,58-0,86)] ortancasına göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca EK grubunun [0,81 (0,74-0,92)] ortancası da KD kefir grubunun [0,76 (0,58-0,86)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

Çözünür katı madde miktarı bakımından SK kefir grubunun [8,80 (8,60-9,00)] ortancası, KD kefir grubunun [8,40 (8,00-9,00)] ortancasına ve EK grubunun [8,00 (7,00-8,20)] ortancasına göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca KD kefir grubunun [8,40 (8,00-9,00)] ortancası, EK grubunun [8,00 (7,00-8,20)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

Tablo 5. EK, SK ve KD kefir örneklerinin kimyasal analiz sonuçları

	Grup	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	F-H	p
Kuru Madde (%)	EK	10,05±0,58	10,15 ^a (8,74-10,73)	H=29,988	<0,001***
	SK	11,26±0,16	11,27 ^b (11,06-11,44)		
	KD	11,30±0,16	11,28 ^b (11,02-11,62)		
Kül (%)	EK	0,62±0,12	0,63 (0,33-0,84)	F=1,081	0,349
	SK	0,66±0,03	0,66 (0,60-0,71)		
	KD	0,66±0,05	0,67 (0,56-0,74)		
Yağ (%)	EK	2,67±0,28	2,70 (2,20-3,00)	H=4,890	0,087
	SK	2,89±0,10	2,85 (2,80-3,00)		
	KD	2,87±0,08	2,90 (2,70-3,00)		
Protein (%)	EK	2,78±0,15	2,79 ^c (2,54-3,01)	H=26,840	<0,001***
	SK	2,39±0,39	2,32 ^b (2,01-2,90)		
	KD	2,02±0,32	2,01 ^a (1,55-2,45)		
Titrasyon Asitliği (% Laktik Asit)	EK	0,82±0,06	0,81 ^b (0,74-0,92)	H=18,058	<0,001***
	SK	0,88±0,05	0,87 ^c (0,81-0,96)		
	KD	0,73±0,09	0,76 ^a (0,58-0,86)		
Çözünür Katı Madde İçeriği (°Brix)	EK	7,77±0,47	8,00 ^a (7,00-8,20)	H=32,583	<0,001***
	SK	8,83±0,17	8,80 ^c (8,60-9,00)		
	KD	8,40±0,25	8,40 ^b (8,00-9,00)		
pH	EK	4,33±0,09	4,33 (4,23-4,44)	H=5,255	0,072
	SK	5,25±0,51	5,25 (4,89-5,61)		
	KD	4,57±0,35	4,52 (4,17-5,13)		

F: Tek Yönlü ANOVA Testi; H: Kruskal-Wallis H Testi

***p<0,001

a, b, c: Ortak harfe sahip olmayan medyanlar arasındaki fark anlamlıdır (p>0,05).

EK: endüstriyel kefir, SK: starter kültür ile üretilen, KD: kefir daneleri ile üretilen kefir

4.2 Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgelerinin DPPH Radikal Süpürme Kapasitesi Değerlerine Ait Ön Test – Son Test Karşılaştırma Sonuçları

Kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri Tablo 6'da karşılaştırılmıştır. EK ve SK kefir örneklerinin ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında, mide ve ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı (p>0,05) bulunmuştur.

Çalışmada KD kefir örneklerinin mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında ($R=7,765$; $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur. Ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında ve ince bağırsak 0. dk – 60. dk – 120. dk DPPH değerleri arasında anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir. KD kefir gruplarının mide bölgesinde 0. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi ($54,48\pm15,18$) ortalaması ve 60. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değeri ($36,00\pm6,11$) ortalaması, 120. dk DPPH değeri ($25,41\pm10,07$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

EK, SK ve KD kefir gruplarına göre mide bölgesi 60. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında ($H=7,064$; $p<0,05$), mide bölgesi 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında ($H=7,064$; $p<0,05$), ince bağırsak bölgesi 0. dk DPPH değerleri arasında ($H=7,000$; $p<0,05$), ince bağırsak bölgesi 60. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında ($H=8,591$; $p<0,05$) ve ince bağırsak bölgesi 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında ($H=7,255$; $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Mide bölgesi 60. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerlerinde EK grubu [67,11 (59,05-71,31)] ortancası, KD kefir grubu [38,85 (28,36-42,67)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Yine mide bölgesi 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerlerinde EK kefir grubu [71,26 (67,18-73,49)] ortancası, KD kefir grubu [26,35 (9,02-34,81)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. İnce bağırsak 0. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerlerinde EK kefir grubu [59,11 (51,64-70,97)] ortancası, KD kefir grubu [29,63 (16,64-39,50)] ortancasına ve SK kefir grubu [28,66 (27,36-29,95)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. İnce bağırsak 60. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerlerinde EK grubu [59,55 (55,34-67,32)] ortancası, KD kefir grubu [26,78 (22,67-36,57)] ortancasına ve SK kefir grubu [15,30 (15,25-15,36)] ortancasına göre yüksek bulunmuştur. İnce bağırsak 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerlerinde de EK grubu [56,85 (51,65-61,97)] ortancası, SK kefir grubu [22,81 (14,17-31,45)] ortancasına ve KD kefir grubu [22,72 (14,61-37,16)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

Tablo 6. EK, SK ve KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki DPPH radikal süpürme kapasitesi değerlerinin karşılaştırılması

	EK		SK		KD		H	p
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)		
Ağız – 0. dk	75,92±9,15	76,11 (66,02-85,44)	59,67±30,25	59,67 (38,28-81,06)	82,32±19,12	89,77 (48,47-94,59)	3,818	0,148
Ağız – 2. dk	71,66±6,90	73,92 (61,58-77,22)	58,04±29,25	58,04 (37,35-78,72)	77,50±11,20	75,11 (61,95-90,80)	1,641	0,440
T-W	T=1,611		W=-1,342		W=-0,944			
p1	0,205		0,180		0,345			
Mide – 0. dk	69,16±8,89	71,26 (56,67-77,46)	42,81±8,06	42,81 (37,11-48,51)	54,48±15,18 ^b	53,95 (35,10-74,57)	4,200	0,122
Mide – 60. dk	66,15±5,20	67,11 ^B (59,05-71,31)	39,56±3,11	39,56 ^{AB} (37,36-41,76)	36,00±6,11 ^b	38,85 ^A (28,36-42,67)	7,064	0,029*
Mide – 120. dk	70,80±2,92	71,26 ^B (67,18-73,49)	29,07±1,38	29,07 ^{AB} (28,09-30,04)	25,41±10,07 ^a	26,35 ^A (9,02-34,81)	7,064	0,029*
R-FD	R=0,578		FD=3,000		R=7,765			
p1	0,503		0,223		0,013*			
İnce Bağırsak – 0. dk	60,21±9,10	59,11 ^B (51,64-70,97)	28,66±1,83	28,66 ^A (27,36-29,95)	28,66±8,18	29,63 ^A (16,64-39,50)	7,000	0,030*
İnce Bağırsak – 60. dk	60,44±5,12	59,55 ^B (55,34-67,32)	15,30±0,08	15,30 ^A (15,25-15,36)	29,26±6,30	26,78 ^A (22,67-36,57)	8,591	0,014*
İnce Bağırsak – 120. dk	56,83±5,86	56,85 ^B (51,65-61,97)	22,81±12,21	22,81 ^A (14,17-31,45)	25,91±9,68	22,72 ^A (14,61-37,16)	7,255	0,027*
R-FD	FD=1,500		FD=1,000		R=0,264			
p1	0,472		0,607		0,775			

T: Bağımlı Örneklem T Testi; W: Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi; R: Tekrarlı Ölçümler ANOVA Testi, FD: Friedman Testi; H: Kruskal-Wallis H Testi

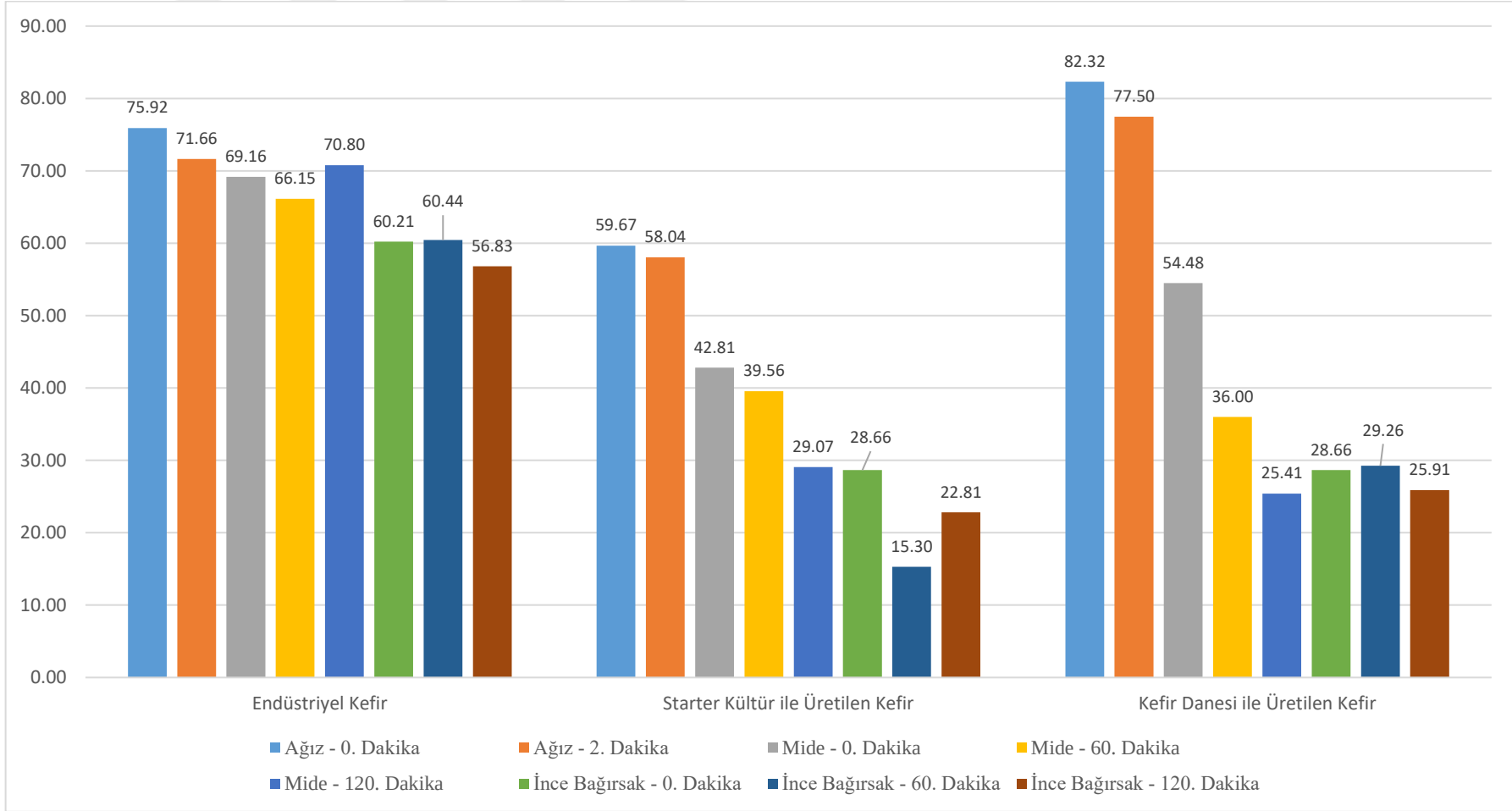
p1: Grup içi 0. dk-2. dk ve 0. dk-60. dk-120. dk değerleri arasındaki karşılaştırma yapılmıştır

p2: Gruplar arası 0. dk, 2. dk, 60. dk ve 120. dk değerleri arasındaki karşılaştırma yapılmıştır

*p<0,05

a, b, A, B: Ortak harfe sahip olmayan ortalama ve medyanlar arasındaki fark anlamlıdır (p>0,05)

EK: endüstriyel kefir, SK: starter kültür ile üretilen, KD: kefir daneleri ile üretilen kefir



Şekil 5. EK, SK, KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki DPPH radikal süpürme kapasitesi değerlerinin dağılımı

4.3 Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgesi DPPH Radikal Süpürme Kapasitesi Fark Değerlerinin Karşılaştırma Sonuçları

Çalışmadaki EK, SK ve KD kefir gruplarına göre bölge DPPH radikal süpürme kapasitesi fark değerleri Tablo 7’de karşılaştırılmış ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur.

EK, SK ve KD kefir gruplarına göre mide bölgesi DPPH radikal süpürme kapasitesi fark değerleri arasında ($H=7,573$; $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu, fakat ağız ve ince bağırsak bölgesi fark değerleri arasında anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur.

Sonuç incelendiğinde, mide DPPH radikal süpürme kapasitesi fark değerlerinde KD kefir grubu $[-21,32 (-65,55-(-8,75))]$ ortancası, EK grubu $[-0,93 (-4,66-13,04)]$ ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

4.4 Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgelerinin pH Değerlerine Ait Ön Test – Son Test Karşılaştırma Sonuçları

EK, SK ve KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki pH değerleri Tablo 8’de karşılaştırılmıştır.

EK ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk pH değerleri arasında ($T=3,363$; $p<0,05$), mide bölgesinde 0. dk – 30. dk – 60. dk – 120. dk pH değerleri arasında ($R=117,778$; $p<0,001$) ve ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 30. dk – 60. dk – 120. dk pH değerleri arasında ($R=80,129$; $p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur.

EK grubunda ağız bölgesi 0. dk pH değeri ($4,33\pm0,09$) ortalaması, 2. dk pH değeri ($4,26\pm0,11$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

Tablo 7. EK, SK ve KD kefir gruplarının ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerinde DPPH radikal süpürme kapasitesi fark değerlerinin karşılaştırılması

	EK		SK		KD		H	p2
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)		
Ağız – Fark	-4,26±5,29	-6,05 (-8,22-3,27)	-1,63±1,00	-1,64 (-2,34-(-0,93))	-4,81±20,01	-4,17 (-29,84-25,59)	1,391	0,499
Mide – Fark	1,63±7,96	-0,93 ^a (-4,66-13,04)	-13,75±6,68	-13,75 ^{ab} (-18,47-(-9,02))	-29,06±21,82	-21,32 ^b (-65,55-(-8,75))	7,573	0,023*
İnce Bağırsak – Fark	-3,38±12,13	-2,19 (-19,32-10,19)	-5,85±14,05	-5,85 (-15,78-4,09)	-2,76±8,54	-2,34 (-12,69-6,08)	0,255	0,880
F-H	F=0,508		H=2,000		F=3,381			
p1	0,618		0,368		0,068			

F: Tek Yönlü ANOVA Testi, H: Kruskal-Wallis H Testi

p1: Grup içi ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi fark değerleri karşılaştırılmıştır

p2: Gruplar arası ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi fark değerleri karşılaştırılmıştır

*p<0,05

a, b: Ortak harfe sahip olmayan medyanlar arasındaki fark anlamlıdır (p<0,05)

EK: endüstriyel kefir, SK: starter kültür ile üretilen, KD: kefir daneleri ile üretilen kefir

Mide bölgesi 0. dk pH değeri ($4,27\pm0,10$) ortalaması, 30. dk pH değeri ($3,24\pm0,29$) ortalamasına, 60. dk pH değeri ($2,54\pm0,02$) ortalamasına ve 120. dk pH değeri ($2,51\pm0,01$) ortalamasına göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca 30. dk pH değeri ($3,24\pm0,29$) ortalaması, 60. dk pH değeri ($2,54\pm0,02$) ortalamasına ve 120. dk pH değeri ($2,51\pm0,01$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

İnce bağırsak bölgesi 60. dk pH değeri ($6,93\pm0,05$) ortalaması ve 120. dk pH değeri ($6,90\pm0,01$) ortalaması, 30. dk pH değeri ($4,71\pm0,92$) ortalamasına ve 0. dk pH değeri ($2,61\pm0,08$) ortalamasına göre, ayrıca 30. dk pH değeri ($4,71\pm0,92$) ortalaması, 0. dk pH değeri ($2,61\pm0,08$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

SK kefirlerin ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk değerleri arasında, mide ve ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 30. dk – 60. dk – 120. dk değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur.

KD kefirlerinin ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk pH değerleri arasında ($T=5,234$; $p<0,01$), mide bölgesinde 0. dk – 30. dk – 60. dk – 120. dk pH değerleri arasında ($R=57,236$; $p<0,001$) ve ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 30. dk – 60. dk – 120. dk pH değerleri arasında ($R=14,125$; $p<0,01$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur.

Sonuçlar incelendiğinde, KD kefir grubunda ağız bölgesi 0. dk pH değeri ($4,57\pm0,35$) ortalaması, 2. dk pH değeri ($4,36\pm0,28$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

Mide bölgesi 0. dk pH değeri ($4,04\pm0,33$) ortalaması, 30. dk pH değeri ($3,03\pm0,38$) ortalamasına, 60. dk pH değeri ($2,51\pm0,02$) ortalamasına ve 120. dk pH değeri ($2,51\pm0,02$) ortalamasına göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca 30. dk pH değeri ($3,03\pm0,38$) ortalaması, 60. dk pH değeri ($2,51\pm0,02$) ortalamasına ve 120. dk pH değeri ($2,51\pm0,02$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

Tablo 8. EK, SK ve KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki pH değerlerinin karşılaştırılması

	EK		SK		KD		H	p
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)		
Ağız – 0. dk	4,33±0,09	4,33 (4,23-4,44)	5,25±0,51	5,25 (4,89-5,61)	4,57±0,35	4,52 (4,17-5,13)	5,255	0,072
Ağız – 2. dk	4,26±0,11	4,24 (4,15-4,42)	4,96±0,61	4,96 (4,53-5,39)	4,36±0,28	4,27 (4,11-4,84)	4,041	0,133
T-W	T=3,363		W=1,342		T=5,234			
p1	0,044*		0,180		0,006**			
Mide – 0. dk	4,27±0,10 ^c	4,29 (4,15-4,37)	4,89±0,57	4,89 (4,48-5,29)	4,04±0,33 ^c	4,12 (3,68-4,49)	4,405	0,111
Mide – 30. dk	3,24±0,29 ^b	3,28 (2,91-3,49)	3,78±0,33	3,78 (3,54-4,01)	3,03±0,38 ^b	3,19 (2,50-3,39)	5,155	0,076
Mide – 60. dk	2,54±0,02 ^a	2,54 (2,51-2,55)	2,55±0,05	2,55 (2,52-2,59)	2,51±0,02 ^a	2,51 (2,50-2,54)	4,332	0,115
Mide – 120. dk	2,51±0,01 ^a	2,51 (2,50-2,53)	2,51±0,01	2,51 (2,50-2,51)	2,51±0,02 ^a	2,50 (2,49-2,53)	0,159	0,924
R-FD	R=117,778		FD=6,000		R=57,236			
p1	<0,001***		0,112		<0,001***			
İnce Bağırsak – 0. dk	2,61±0,08 ^a	2,63 ^B (2,51-2,69)	2,83±0,08	2,83 ^A (2,77-2,89)	2,85±0,08	2,87 ^{aA} (2,72-2,91)	7,064	0,029*
İnce Bağırsak – 30. dk	4,71±0,92 ^b	4,64 (3,88-5,70)	4,48±0,25	4,48 (4,30-4,65)	4,95±0,79	4,47 ^b (4,21-5,90)	0,695	0,706
İnce Bağırsak – 60. dk	6,93±0,05 ^c	6,92 (6,88-6,99)	6,90±0,02	6,90 (6,88-6,91)	6,89±0,01	6,89 ^c (6,88-6,90)	2,366	0,306
İnce Bağırsak – 120. dk	6,90±0,01 ^c	6,90 (6,88-6,91)	6,89±0,01	6,89 (6,88-6,90)	6,90±0,01	6,90 ^c (6,88-6,90)	0,441	0,802
R-FD	R=80,129		FD=5,400		FD=14,125			
p1	<0,001***		0,145		0,003**			

T: Bağımlı Örneklem T Testi; W: Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi; R: Tekrarlı Ölçümler ANOVA Testi, FD: Friedman Testi; H: Kruskal-Wallis H Testi

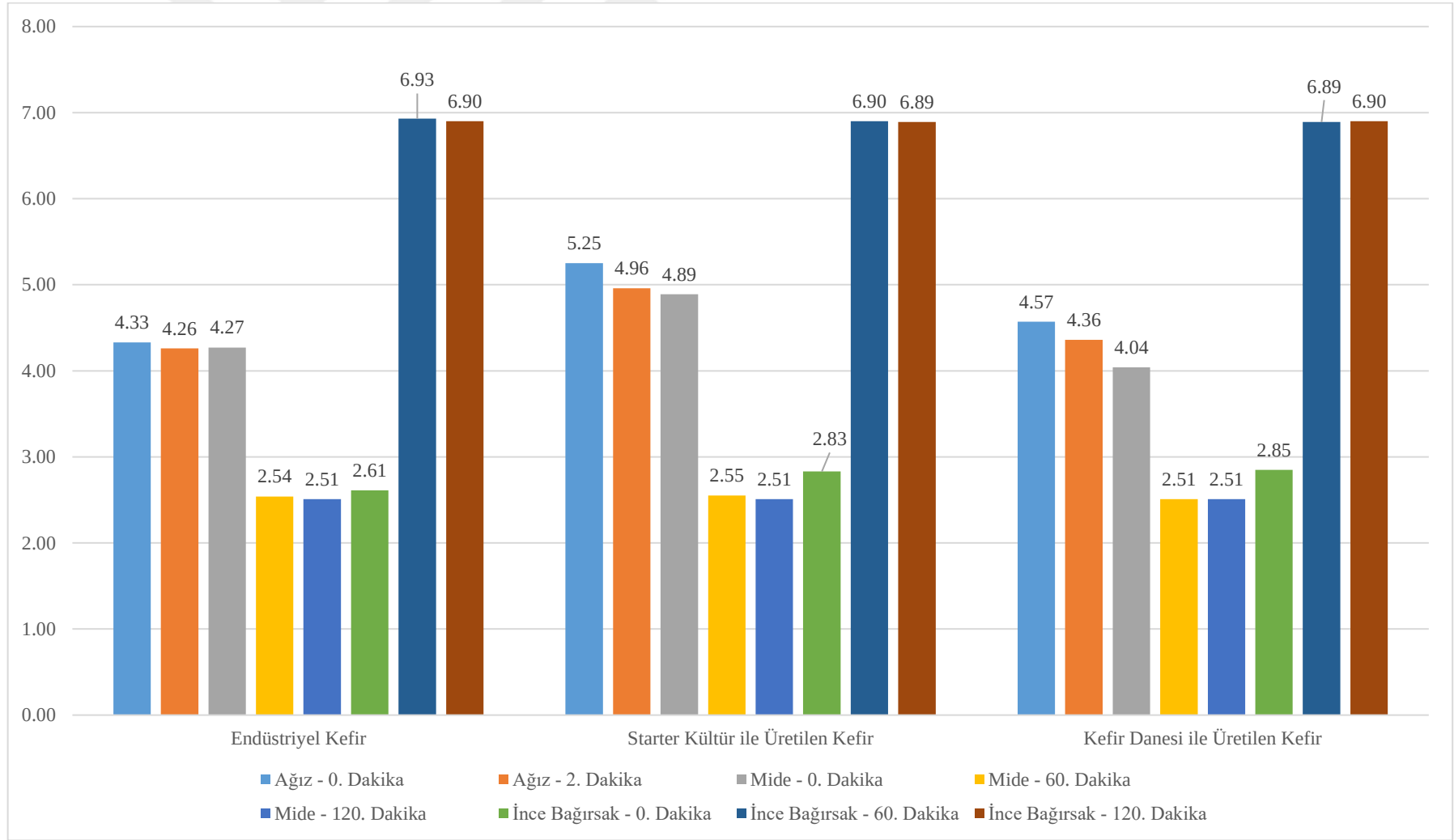
p1: Grup içi 0. dk-2. dk ve 0. dk-30. dk-60. dk-120. dk değerleri arasındaki karşılaştırma yapılmıştır

p2: Gruplar arası 0. dk, 2. dk, 30. dk, 60. dk ve 120. dk değerleri arasındaki karşılaştırma yapılmıştır

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

a, b, c, A, B: Ortak harfe sahip olmayan ortalama ve medyanlar arasındaki fark anlamlıdır (p>0,05)

EK: endüstriyel kefir, SK: starter kültür ile üretilen, KD: kefir daneleri ile üretilen kefir



Şekil 6. EK, SK, KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki pH değerlerinin dağılımı

İnce bağırsak bölgesi 120. dk pH değeri [6,90 (6,88-6,90)] ortancası ve 60. dk pH değeri [6,89 (6,88-6,90)] ortancası, 30. dk pH değeri [4,47 (4,21-5,90)] ortancasına ve 0. dk pH değeri [2,87 (2,72-2,91)] ortancasına göre, ayrıca 30. dk pH değeri [4,47 (4,21-5,90)] ortancası, 0. dk pH değeri [2,87 (2,72-2,91)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. EK, SK ve KD kefir gruplarına göre ince bağırsak bölgesi 0. dk değerleri arasında ($H=7,064$; $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur. İnce bağırsak bölgesi 0. dk değerlerinde KD kefir grubu [2,87 (2,72-2,91)] ortancası ve SK kefir grubu [2,83 (2,77-2,89)] ortancası, EK grubu [2,63 (2,51-2,69)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

4.5 Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgesi pH fark Değerlerinin Karşılaştırma Sonuçları

EK, SK ve KD kefir gruplarına göre bölge pH fark değerleri Tablo 9'da karşılaştırılmıştır. EK gruplarına göre bölge fark değerleri arasında ($F=53,786$; $p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur.

EK grubu ince bağırsak bölgesi pH değeri ($2,18\pm0,92$) ortalaması, ağız bölgesi pH değeri ($-0,07\pm0,04$) ortalamasına ve mide bölgesi pH değeri ($-1,74\pm0,08$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca ağız bölgesi pH değeri ($-0,07\pm0,04$) ortalaması, mide bölgesi pH değeri ($-1,74\pm0,08$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

SK kefir gruplarına göre bölge fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$), KD kefir gruplarına göre bölge fark değerleri arasında ($F=61,584$; $p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur.

KD kefir grubu ince bağırsak bölgesi pH değeri ($1,95\pm0,80$) ortalaması, ağız bölgesi pH değeri ($-0,21\pm0,09$) ortalamasına ve mide bölgesi pH değeri ($-1,53\pm0,33$) ortalamasına göre, ayrıca ağız bölgesi pH değeri ($-0,21\pm0,09$) ortalaması, mide bölgesi pH değeri ($-1,53\pm0,33$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

Tablo 9. EK, SK ve KD kefir gruplarının ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerinde pH fark değerlerinin karşılaştırılması

	EK		SK		KD		H	p2
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)		
Ağız – Fark	-0,07±0,04	-0,07 ^b (-0,12-(-0,02))	-0,29±0,10	-0,29 (-0,36-(-0,36))	-0,21±0,09	-0,25 ^b (-0,29-(-0,06))	5,240	0,073
Mide – Fark	-1,74±0,08	-1,74 ^a (-1,83-(-1,64))	-2,33±0,62	-2,33 (-2,77-(-1,89))	-1,53±0,33	-1,62 ^a (-1,99-(-1,17))	4,818	0,090
İnce Bağırsak – Fark	2,18±0,92	2,25 ^c (1,20-3,03)	2,42±0,26	2,42 (2,23-2,60)	1,95±0,80	2,43 ^c (0,98-2,69)	0,695	0,706
F-H	53,786		H=4,571		F=61,584			
p1	<0,001***		0,102		<0,001***			

F: Tek Yönlü ANOVA Testi, H: Kruskal-Wallis H Testi

p1: Grup içi ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi fark değerleri karşılaştırılmıştır

p2: Gruplar arası ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi fark değerleri karşılaştırılmıştır

***p<0,001

a, b, c: Ortak harfe sahip olmayan medyanlar arasındaki fark anlamlıdır (p<0,05)

EK: endüstriyel kefir, SK: starter kültür ile üretilen, KD: kefir daneleri ile üretilen kefir

Sonuç olarak Tablo 9’da görüldüğü gibi EK, SK ve KD kefir gruplarına göre ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur.

4.6 Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgelerinin Canlı *Lactobacillus* Sayılarına Ait Ön Test – Son Test Karşılaştırma Sonuçları

EK, SK ve KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki canlı *Lactobacillus* sayıları Tablo 10’da karşılaştırılmıştır. EK ve SK kefirlerin ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk canlı *Lactobacillus* sayıları (log kob/mL) arasında, mide ve ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur.

KD ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında ($T=3,968$; $p<0,05$) ve mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında ($R=11,146$; $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu, ince bağırsak 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur.

KD ağız bölgesinde 0. dk canlı *Lactobacillus* sayıları ($10,35\pm0,08$) ortalaması, 2. dk canlı *Lactobacillus* sayıları ($10,29\pm0,08$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek saptanmışken, mide bölgesinde 0. dk canlı *Lactobacillus* sayıları ($10,14\pm0,17$) ortalaması, 60. dk canlı *Lactobacillus* sayıları ($9,21\pm0,50$) ortalamasına ve 120. dk canlı *Lactobacillus* sayıları ($8,69\pm0,47$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

EK, SK ve KD gruplarına göre mide bölgesi 0. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında ($H=7,205$; $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

Tablo 10. EK, SK ve KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki canlı *Lactobacillus* sayılarının (log kob/mL) karşılaştırılması

	EK		SK		KD		H	p
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)		
Ağız – 0. dk	9,98±0,27	9,91 (9,75-10,36)	9,84±0,46	9,84 (9,51-10,16)	10,35±0,08	10,38 (10,21-10,41)	5,823	0,054
Ağız – 2. dk	9,96±0,24	9,87 (9,78-10,31)	9,78±0,47	9,78 (9,45-10,12)	10,29±0,08	10,30 (10,15-10,37)	5,073	0,079
T-W	T=1,380		W=-1,342		T=3,968			
p1	0,261		0,180		0,017*			
Mide – 0. dk	9,84±0,22	9,76 (9,68-10,16)	9,71±0,46	9,71 (9,38-10,04)	10,14±0,17 ^b	10,21 (9,91-10,29)	4,041	0,133
Mide – 60. dk	9,60±0,10	9,62 (9,47-9,69)	7,89±1,66	7,89 (6,72-9,06)	9,21±0,50 ^a	9,11 (8,81-10,07)	4,664	0,097
Mide – 120. dk	9,12±0,46	9,23 (8,48-9,51)	7,08±1,04	7,08 (6,35-7,82)	8,69±0,47 ^a	8,85 (7,92-9,07)	5,973	0,050
R-FD	R=5,719		FD=4,000		R=11,146			
p1	0,059		0,135		0,019*			
İnce Bağırsak – 0. dk	9,35±0,34	9,41 ^B (8,90-9,69)	7,01±1,27	7,01 ^A (6,11-7,90)	8,51±0,45	8,62 ^A (7,74-8,95)	7,205	0,027*
İnce Bağırsak – 60. dk	9,21±0,18	9,23 (8,99-9,38)	7,18±1,18	7,18 (6,35-8,01)	8,46±0,73	8,59 (7,57-9,37)	5,268	0,072
İnce Bağırsak – 120. dk	8,87±0,37	8,93 (8,38-9,25)	7,24±1,00	7,24 (6,53-7,94)	8,19±0,91	8,26 (6,71-9,18)	5,255	0,072
R-FD	R=2,284		FD=3,000		0,401			
p1	0,227		0,223		0,606			

T: Bağımlı Örneklem T Testi; W: Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi; R: Tekrarlı Ölçümler ANOVA Testi, FD: Friedman Testi; H: Kruskal-Wallis H Testi

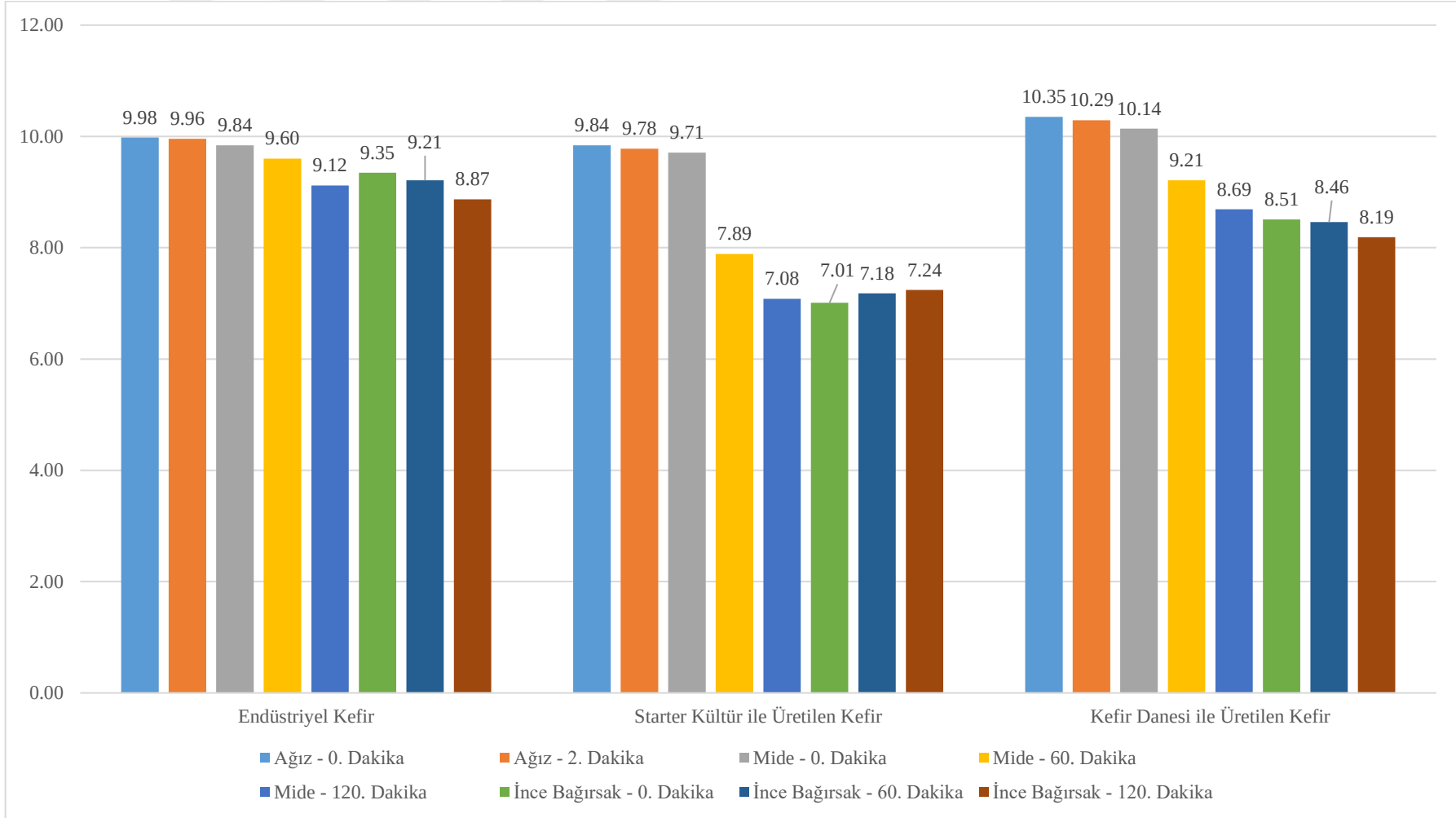
p1: Grup içi 0. dk-2. dk ve 0. dk-60. dk-120. dk değerleri arasındaki karşılaştırma yapılmıştır

p2: Gruplar arası 0. dk, 2. dk, 60. dk ve 120. dk değerleri arasındaki karşılaştırma yapılmıştır

*p<0,05

a, b, A, B: Ortak harfe sahip olmayan ortalama ve medyanlar arasındaki fark anlamlıdır (p>0,05)

EK: endüstriyel kefir, SK: starter kültür ile üretilen, KD: kefir daneleri ile üretilen kefir



Şekil 7. EK, SK, KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki canlı *Lactobacillus* sayılarının (log kob/ml) dağılımı

Mide bölgesi 0. dk canlı *Lactobacillus* sayıları EK grubu [9,41 (8,90-9,69)] ortancası, KD kefir grubu [8,62 (7,74-8,95)] ortancasına ve SK kefir grubu [7,01 (6,11-7,90)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (Tablo 10).

4.7 Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgesi Canlı *Lactobacillus* Sayıları Fark Değerlerinin Karşılaştırma Sonuçları

EKve SK gruplarına göre bölge canlı *Lactobacillus* sayıları fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$), KD kefir gruplarına göre bölge canlı *Lactobacillus* sayıları fark değerleri arasında ($F=4,840$; $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur (Tablo 11).

KD ağız bölgesi canlı *Lactobacillus* sayıları fark değeri ($-0,06\pm0,03$) ortalaması, mide bölgesi canlı *Lactobacillus* sayıları fark değeri ($-1,44\pm0,59$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

EK, SK ve KD kefir gruplarına göre ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi canlı *Lactobacillus* sayıları fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur.

4.8 Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgelerinin Canlı *Lactococcus* Sayılarına Ait Ön Test – Son Test Karşılaştırma Sonuçları

EK, SK ve KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki canlı *Lactococcus* sayıları Tablo 12’de karşılaştırılmıştır.

EK grubu kefirlerin mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında ($R=10,236$; $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu, ağız 0. dk – 2. dk canlı *Lactococcus* sayıları, ince bağırsak 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur.

Tablo 11. EK, SK ve KD kefir gruplarının ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerinde canlı *Lactobacillus* sayıları (log kob/mL) fark değerlerinin karşılaştırılması

	EK		SK		KD		H	p2
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)		
Ağız – Fark	-0,03±0,04 ^b	-0,04 (-0,06-0,03)	-0,05±0,02	-0,05 (-0,06-(-0,04))	-0,06±0,03 ^b	-0,06 (-0,11-(-0,02))	2,914	0,233
Mide – Fark	-0,72±0,47 ^a	-0,72 (-1,30-(-0,16))	-2,63±0,57	-2,63 (-3,03-(-2,22))	-1,44±0,59 ^a	-1,18 (-2,37-(-0,93))	5,823	0,054
İnce Bağırsak – Fark	-0,48±0,65 ^{ab}	-0,37 (-1,31-0,12)	0,23±0,27	0,23 (0,04-0,42)	-0,32±1,15 ^{ab}	-0,06 (-2,23-0,60)	1,618	0,445
F-H	F=2,354		H=4,571		F=4,840			
p1	0,151		0,102		0,029*			

F: Tek Yönlü ANOVA Testi, H: Kruskal-Wallis H Testi

p1: Grup içi ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi fark değerleri karşılaştırılmıştır

p2: Gruplar arası ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi fark değerleri karşılaştırılmıştır

*p<0,05

a, b: Ortak harfe sahip olmayan medyanlar arasındaki fark anlamlıdır (p<0,05)

EK: endüstriyel kefir, SK: starter kültür ile üretilen, KD: kefir daneleri ile üretilen kefir

Tablo 12. EK, SK ve KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki canlı *Lactococcus* sayılarının (log kob/mL) karşılaştırılması

	EK		SK		KD		H	p
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)		
Ağız – 0. dk	10,17±0,22	10,18 ^{AB} (9,96-10,38)	9,80±0,02	9,80 ^A (9,78-9,81)	10,40±0,07	10,43 ^B (10,30-10,48)	6,505	0,039*
Ağız – 2. dk	10,06±0,23	10,06 ^A (9,85-10,26)	9,70±0,02	9,70 ^A (9,69-9,72)	10,36±0,06	10,37 ^B (10,27-10,42)	8,591	0,014*
T-W	W=-1,826		W=-1,342		T=3,101			
p1	0,068		0,180		0,036*			
Mide – 0. dk	10,01±0,27 ^b	10,04 ^A (9,72-10,25)	9,66±0,03	9,66 ^A (9,64-9,68)	10,31±0,04	10,32 ^B (10,25-10,37)	7,814	0,020*
Mide – 60. dk	9,61±0,33 ^{ab}	9,64 (9,20-9,97)	8,21±1,48	8,21 (7,17-9,26)	9,11±0,51	9,13 (8,34-9,77)	3,023	0,221
Mide – 120. dk	9,21±0,24 ^a	9,22 (8,97-9,44)	7,65±0,69	7,65 (7,17-8,14)	8,87±0,65	9,02 (7,92-9,69)	4,041	0,133
R-FD	R=10,236		FD=4,000		R=25,771			
p1	0,017*		0,135		<0,001***			
İnce Bağırsak – 0. dk	9,28±0,37	9,20 (8,98-9,75)	7,06±0,71	7,06 (6,56-7,56)	8,89±0,65 ^c	8,91 (8,18-9,58)	5,155	0,076
İnce Bağırsak – 60. dk	9,23±0,42	9,18 ^B (8,83-9,74)	7,22±0,28	7,22 ^A (7,02-7,42)	8,66±0,52 ^b	8,62 ^{AB} (8,23-9,55)	6,505	0,039*
İnce Bağırsak – 120. dk	9,03±0,35	8,92 (8,73-9,54)	7,43±0,77	7,43 (6,89-7,98)	8,37±0,94 ^a	8,43 (6,90-9,49)	5,823	0,054
R-FD	R=0,744		FD=1,000		R=0,929			
p1	0,514		0,607		0,434			

T: Bağımlı Örneklem T Testi; W: Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi; R: Tekrarlı Ölçümler ANOVA Testi, FD: Friedman Testi; H: Kruskal-Wallis H Testi

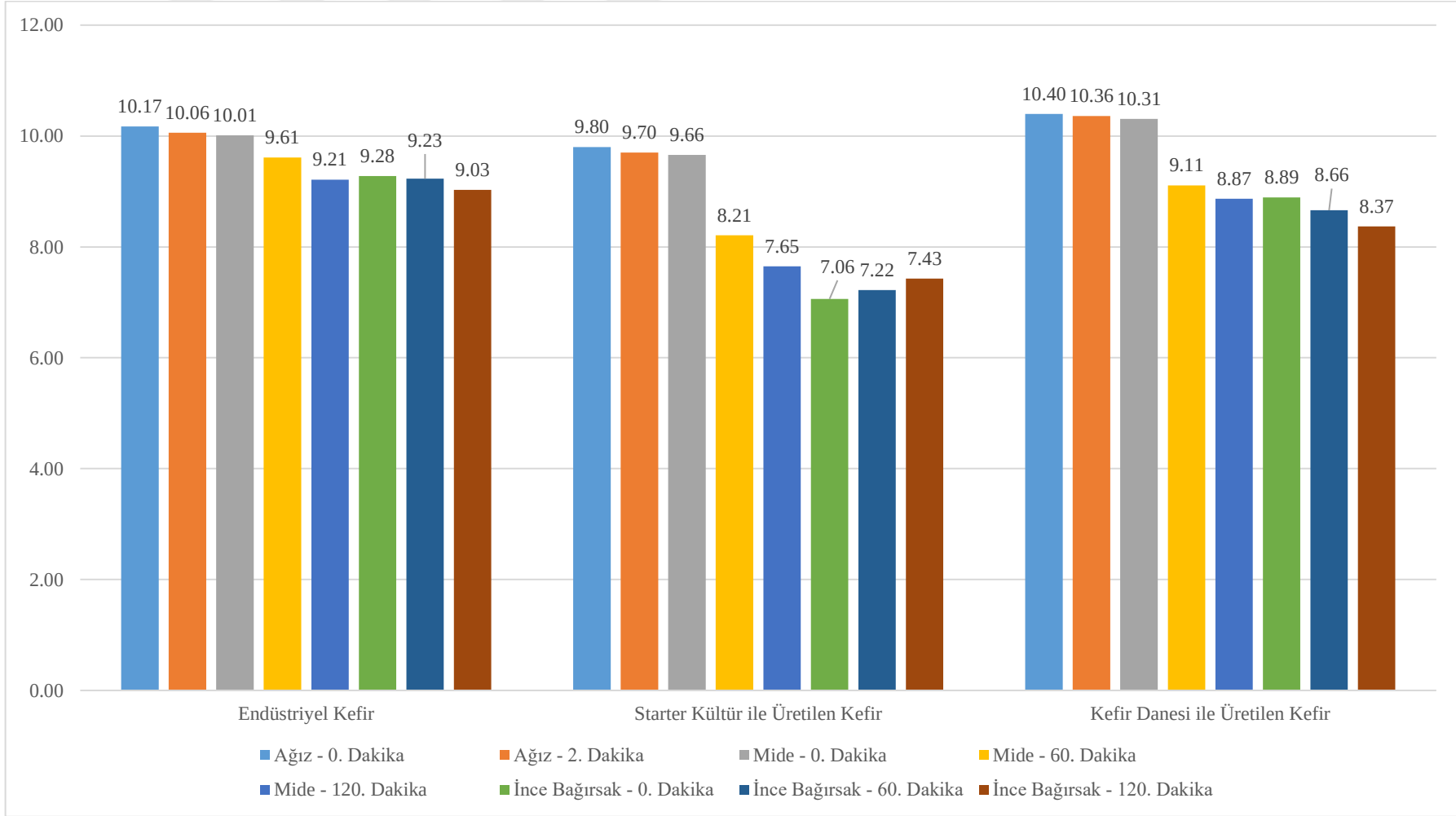
p1: Grup içi 0. dk-2. dk ve 0. dk-60. dk-120. dk değerleri arasındaki karşılaştırma yapılmıştır

p2: Gruplar arası 0. dk, 2. dk, 60. dk ve 120. dk değerleri arasındaki karşılaştırma yapılmıştır

*p<0,05; ***p<0,001

a, b, c, A, B: Ortak harfe sahip olmayan ortalama ve medyanlar arasındaki fark anlamlıdır (p<0,05)

EK: endüstriyel kefir, SK: starter kültür ile üretilen, KD: kefir daneleri ile üretilen kefir



Şekil 8. EK, SK, KD kefir gruplarının 0-2. dk ağız, 0, 60 ve 120. dk mide ve ince bağırsak bölgelerindeki canlı *Lactococcus* sayılarının (log kob/ml) dağılımı

EK grubu kefirlerin mide bölgesinde 0. dk canlı *Lactococcus* sayıları ($10,01 \pm 0,27$) ortalaması, 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları ($9,21 \pm 0,24$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. SK kefir gruplarının ise ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında, mide ve ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur.

KD kefirlerin ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında ($T=3,101$; $p < 0,05$) ve mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında ($R=25,771$; $p < 0,001$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir. İnce bağırsak 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında anlamlı fark olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur.

KD kefirlerin ağız bölgesinde 0. dk canlı *Lactococcus* sayıları ($10,40 \pm 0,07$) ortalaması, 2. dk canlı *Lactococcus* sayıları ($10,36 \pm 0,06$) ortalamasına göre, mide bölgesinde 0. dk canlı *Lactococcus* sayıları ($10,31 \pm 0,04$) ortalaması, 60. dk canlı *Lactococcus* sayıları ($9,11 \pm 0,51$) ortalamasına ve 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları ($8,87 \pm 0,65$) ortalamasına göre, ayrıca 60. canlı *Lactococcus* sayıları ($9,11 \pm 0,51$) ortalaması, 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları ($8,87 \pm 0,65$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

EK, SK ve KD kefir gruplarına göre ağız bölgesi 0. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında ($H=6,505$; $p < 0,05$), 2. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında ($H=8,591$; $p < 0,05$), mide bölgesi 0. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında ($H=7,814$; $p < 0,05$) ve ince bağırsak bölgesi 60. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında ($H=6,505$; $p < 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

Ağız bölgesi 0. dk canlı *Lactococcus* sayıları bakımından KD grubu [$10,43$ ($10,30-10,48$)] ortancası, SK kefir grubu [$9,80$ ($9,78-9,81$)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Ağız bölgesi 2. dk canlı *Lactococcus* sayıları açısından KD kefir grubu [$10,37$ ($10,27-10,42$)] ortancası ise, EK grubu [$10,06$ ($9,85-10,26$)] ortancasına ve SK kefir grubu [$9,70$ ($9,69-9,72$)] ortancasına göre istatistiksel

olarak yüksek bulunmuştur. Mide bölgesi 0. dk canlı *Lactococcus* sayılarında KD kefir grubu [10,32 (10,25-10,37)] ortancası, EK grubu [10,04 (9,72-10,25)] ortancasına ve SK kefir grubu [9,66 (9,64-9,68)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

İnce bağırsak bölgesi 60. dk canlı *Lactococcus* sayıları bakımından EK grubu [9,18 (8,83-9,74)] ortancası, SK kefir grubu [7,22 (7,02-7,42)] ortancasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

4.9 Kefir Gruplarının Ağız, Mide ve İnce Bağırsak Bölgesi Canlı *Lactococcus* Sayıları Fark Değerlerinin Karşılaştırma Sonuçları

EK ve SK kefir gruplarına göre bölge canlı *Lactococcus* sayıları fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$), KD kefir gruplarına göre bölge canlı *Lactococcus* sayıları fark değerleri arasında ($F=4,151$; $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur.

KD kefir grubu ağız bölgesi canlı *Lactococcus* sayıları fark değeri ($-0,04\pm0,03$) ortalaması, mide bölgesi canlı *Lactococcus* sayıları fark değeri ($-1,44\pm0,64$) ortalamasına göre istatistiksel olarak yüksek tespit edilmiştir (Tablo 13).

EK, SK ve KD kefir gruplarına göre ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi canlı *Lactococcus* sayıları fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur (Tablo 13).

Tablo 13. EK, SK ve KD kefir gruplarının ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerinde canlı *Lactococcus* sayıları (log kob/mL) fark değerlerinin karşılaştırılması

	EK		SK		KD		H	p2
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (min-max)		
Ağız – Fark	-0,11±0,02	-0,11 (-0,14-(-0,09))	-0,09±0,04	-0,09 (-0,12-(-0,06))	-0,04±0,03 ^b	-0,03 (-0,07-(-0,01))	6,005	0,050
Mide – Fark	-0,80±0,35	-0,77 (-1,25-(-0,42))	-2,01±0,72	-2,01 (-2,51-(-1,50))	-1,44±0,64 ^a	-1,28 (-2,40-(-0,68))	5,268	0,072
İnce Bağırsak – Fark	-0,25±0,52	-0,07 (-1,01-0,14)	0,37±0,06	0,37 (0,33-0,42)	-0,52±1,19 ^{ab}	-0,09 (-2,58-0,35)	3,641	0,162
F-H	F=4,038		H=4,571		F=4,151			
p1	0,056		0,102		0,043*			

F: Tek Yönlü ANOVA Testi, H: Kruskal-Wallis H Testi

p1: Grup içi ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi fark değerleri karşılaştırılmıştır

p2: Gruplar arası ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi fark değerleri karşılaştırılmıştır

*p<0,05

a, b: Ortak harfe sahip olmayan medyanlar arasındaki fark anlamlıdır (p<0,05)

EK: endüstriyel kefir, SK: starter kültür ile üretilen, KD: kefir daneleri ile üretilen kefir

5 TARTIŞMA

Probiyotik ürünlerin etkinliği için probiyotik bakterilerin canlılığının korunması esastır. Sıcaklık, fermentasyon ve saklama süresi dikkate alınması gereken faktörlerdir. Üretim ve raf ömrü boyunca bakteriyel hücre canlılığının yanı sıra besin ambalajının türü ve oksijen geçirgenliği de dikkate alınması gereken ek faktörlerdir. Probiyotik bakterilerin etkili olabilmesi için kolona yeterli sayıda ulaşması ve en az 10^6 kob/g canlı probiyotik bakteri olması gerekir. Özellikle mide asiditesi ve safra nedeniyle gastrointestinal sistem boyunca probiyotik bakteri sayısında azalma meydana gelebilir. Gastrointestinal koşullarda mikroorganizma canlılığının belirlenmesine ilişkin güvenilir ve doğru veriler elde etmek için insanlar üzerinde yapılan *in vivo* çalışmalar en ideal olanıdır. Ancak insanlarda yapılan klinik çalışmalar her zaman teknik, finansal ve etik açıdan mümkün olmayabilir ve bireysel farklılıklar nedeniyle tekrarlanabilirliğin düşük olması nedeniyle uygulanması da zordur. Hayvan modelleri *in vivo* çalışmalarda da yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak hayvan ölümü ya da mide-bağırsak kanalı içeriğine ulaşmak için sindirim organına kanüllerin yerleştirildiği cerrahi yaklaşımlar gerektirdiğinden kullanımlarından mümkün olduğunca kaçınılır. Besinlerin sağlık açısından faydalarının belirlenmesi, sindirim ve emilim davranışını optimize etmek için simüle edilmiş gastrointestinal çalışmaları gerektirir. Bu nedenle *in vitro* modeller, *in vivo* ve hayvan çalışmalarıyla ilişkili bazı zorluklardan kaçınırken esneklik ve tekrarlanabilirlik sunduklarından gastrointestinal sistemdeki probiyotik davranışları incelemek için daha popüler hale gelmektedir. Kefirde bulunan probiyotik mikroorganizmaların sağlık üzerindeki olumlu etkileri uzun zamandır bilinmektedir. Kefirin üretimi, nakliyesi, depolanması ve raf ömrü boyunca probiyotik mikroorganizmaların canlılığının ve aktivitesinin korunması önemlidir. Ayrıca bu mikroorganizmaların insan gastrointestinal sistemi boyunca olumsuz çevre koşullarına karşı canlılıklarını koruyarak kolona ulaşması gerekmektedir. Çalışmada ağız, mide ve ince bağırsak aşamalarını içeren insan gastrointestinal sistemini simüle etmek için *in vitro* dinamik bir model tasarlanmıştır. *In vivo* araştırmaların teknik zorluklarından ve etik kısıtlamalarından kaçınılırarak, farklı kefir örneklerinde (EK, SK ve KD kefir) bulunan laktik asit bakterilerinin sayısı tekrarlanabilir bir şekilde, *in*

vitro dinamik gastrointestinal sistemden geçtikten sonra canlı mikroorganizmaların sayısı belirlenmiştir.

5.1 Kefirlerin pH Değerleri

Onaran ve Çufaoğlu 24 saatlik inkubasyonun ardından ev tipi kefir örneklerinde pH'larının 5,35-5,80 arasında olduğunu bildirmişlerdir (106). Sayın Yatık, 5 farklı kefir danesi (Çanakkale, Kırgız, Erciyes, Kafkas, Tibet) kullanarak ürettiği kefirlerin pH değerlerinin 3,94 ila 4,20 arasında değiştiğini örnekler arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmiştir (107). Kırmaz ve arkadaşları manda sütü ve % 70 manda sütü ile % 30 diğer cins hayvan sütlerinin (inek, koyun, keçi ve bunların karışımı) karıştırılması ile ürettikleri 5 farklı kefir örneğinin pH değerlerini 4,60 ila 4,71 arasında olduğunu bildirmişlerdir (108).

Ateş, Aydın piyasasında satılan kefirler üzerine gerçekleştirdiği çalışmada sade ve meyveli kefir örneklerinin pH değerlerini sırasıyla 4,43 ve 4,39 olarak belirlemiştir (109). Öksüztepe ve arkadaşları, Elazığ'da satılan sade, meyveli ve light kefir numunelerinin pH değerlerinin 4,2-4,6 arasında değişim gösterdiğini bildirmişlerdir ve sade örneklerin standartlara uygun olup diğer örneklerin pH değerlerinin uygunluk göstermediğini bildirmişlerdir (110). Çirpici ve Çetin ise, Erzurum piyasasında satılan ticari kefir örneklerinin pH değerlerinin 4,35 ile 4,56 arasında değiştiğini belirlemiştir. Ticari kefir örneklerinin yapımında kullanılan sütlerin kalitesi, starter kültürünün kombinasyonu, fermentasyon süresi, sütün mayalanma sıcaklığı ve kuru madde miktarı pH değerindeki farklılıkları etkileyebilmektedir (111).

Ünal ve arkadaşları ticari kefir örneklerinin pH değerlerini 4,26 ila 4,37 arasında olduğunu bildirmişlerdir (112).

Gursoy ve arkadaşları ise, ticari kefirlerin fizikokimyasal ve reolojik özelliklerini araştırdıkları çalışmada kefir örneklerinin pH değerlerinin 3,86-4,06 arasında olduğunu ve örnekler arası farkın istatistiki olarak önemli olduğunu

bildirmişlerdir (113). Güzeler ve arkadaşları kefir, kefir yoğurdu, nohutlu yoğurt karşılaştırması yaptığı çalışmasında kefir örneğini pH değerini $3,96\pm0,17$ olduğunu bildirmişlerdir (114).

Kezer, ticari olarak satılan sade, meyveli ve laktozsuz ile geleneksel yöntemle üretilmiş kefirlerin mikrobiyolojik özelliklerini araştırdığı çalışmasında örneklerin pH değerlerinin $3,890\pm0,010$ ile $3,945\pm0,005$ arasında olduğunu ve istatistiki olarak aralarında fark bulunmadığını bildirmiştir. Bu pH değerinin literatür verilerinden daha düşük olduğunu bunun nedeninin kefir üretiminde kullanılan sütlerin fizikokimyasal özelliklerinden, kefir mayasının mikroflorasından sütün mayalama sıcaklığından fermentasyon koşullarındaki farklılıklardan ileri gelmiş olabileceğini ifade etmiştir (115).

Ufakşeker, endüstriyel ve geleneksel yöntemlerle üretilmiş kefirlerin ve depolama süresince fiziko-kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerini incelediği çalışmada kefir örneklerinin pH değerlerinin ortalama $4,42\pm0,05$ ile $4,57\pm0,10$ arasında olduğunu ve ortalamalar arası farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmiştir (116).

Çalışmamızda EK, SK ve KD kefir örneklerinin pH değerleri literatür bilgileri ile uyum göstermektedir. Asitlik değerleri arasındaki farklılığın kefir üretiminde rol oynayan başlıca laktik asit bakterileri olmak üzere ve mayaların metabolik faaliyetleri sonucu ortaya çıkan bileşiklerin sonucu olabileceği düşünülmektedir.

5.2 Kefirlerin Titrasyon Asitliği Değerleri

Sayın Yatik, ürettikleri 5 farklı kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinin $\%0,84$ ile $\%0,98$ arasında değiştiğini örnekler arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmiştir (107). Ufakşeker, endüstriyel ve geleneksel yöntemlerle ürettiği kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinin ortalama $0,77\pm0,03$ ile $0,88\pm0,01$ arasında olduğunu ve ortalamalar arası farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmiştir (116). Kırmaz ve arkadaşları manda sütü ve $\%70$ manda sütü

ile %30 diğ er cins hayvan s utlerinin (inek, koyun, keçi ve bunların karışımı) karıştırılması ile ürettikleri 5 farklı kefir örneğindeki titrasyon asitliğı miktarını laktik asit cinsinden % $0,91\pm0,04$ ila $1,04\pm0,02$ arasında olduğunu bildirmişlerdir.  alışmalarındaki asitlik değerlerinde gözlenen yüksek değerlerin üretimde kullandıkları s utlerin 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 kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir (108).

Mutluer Yalçın, havuç lifi ile zenginleştirilen kefir örneklerinin titrasyon asitliğı değerlerini %0,78 olarak tespit etmiştir (117). Bengi, propolis ilavesiyle ürettikleri kefir örneklerin asitlik değerlerinin %0,74 ila %0,83 arasında olduğunu 8 günlük depolamadan bağımsız olarak da %0,77 ila %0,81 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Araştırmada elde ettikleri sonuçların literatür bulgularından farklı olmasının ürün tipi, kullanılan starter kültür farklılığı, ürün reçetesini, üretim yöntemi ve depolama süresi ve koşulları vb. farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği bildirmiştir (118).

 nal ve arkadaşları ticari kefir örneklerinin titrasyon asitliğı değerlerini laktik asit cinsinden %0,67 ila 0,88 arasında olduğunu bildirmişlerdir (112). Gursoy ve arkadaşları, ticari kefirlerin fizikokimyasal ve reolojik özelliklerini araştırdıkları çalışmada kefir örneklerinin laktik asit miktarlarının %0,71-0,93 arasında olduğunu ve örnekler arası farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir (113). Ateş, piyasada satılan sade ve meyveli kefir örneklerinin titrasyon asitliğı değerlerini %0,74 ve %0,72 olarak belirlemişler (109),  ks ztepe ve arkadaşları ise, piyasada satılan sade, meyveli ve light kefir örneklerinin laktik asit değerlerinin sırasıyla $0,74\pm0,04$, $0,73\pm0,09$, $0,81\pm0,05$ olduğunu bu değerlerinde mevzuatta yer alan alt limit %0,6 asitlik değerine uygunluk gösterdiğini bildirmişlerdir. Meyveli kefir örneklerindeki asitlik değerinin yüksek olmasının kefire ilave edilen meyvelerden, katılan starter kültürün tipi ve miktarından, inkübasyon süresinden ve sıcaklığından kaynaklanmış olabileceğini ifade etmişlerdir (110). Çalışmamızda EK, SK ve KD kefir örneklerinin titrasyon asitliğı değerleri laktik asit cinsinden sırasıyla

$0,82 \pm 0,06$, $0,87 \pm 0,05$ ve $0,69 \pm 0,10$ olduğu belirlenmiştir. Bu değerler literatür bilgileri ile uyum göstermektedir ve Tebliğ’de yer alan titrasyon asitliği laktik asit cinsinden kütlece en az $0,6$ değerini de karşılamaktadır. Asitlik değerleri arasındaki farklılığın kefir üretiminde rol oynayan başlıca laktik asit bakterileri olmak üzere ve mayaların metabolik faaliyetleri sonucu ortaya çıkan bileşiklerin sonucu olabileceği düşünülmektedir.

5.3 Kefirlerin Kuru Madde Miktarı Değerleri

Kirmaz ve arkadaşları manda sütü ve 70 manda sütü ile 30 diğer cins hayvan sütlerinin (inek, koyun, keçi ve bunların karışımı) karıştırılması ile ürettikleri 5 farklı kefir örneğinde kuru madde miktarlarının $14,42 \pm 0,02$ ila $17,65 \pm 0,04$ arasında olduğunu bildirmişlerdir (108). Akdan ve arkadaşları benzer şekilde yaptıkları çalışmada manda sütü ve 70 manda sütü ile 30 diğer cins hayvan sütlerinin (inek, koyun, keçi ve bunların karışımı) karıştırılması ile ürettikleri 5 farklı kefir örneğindeki kuru madde miktarlarının $14,42 \pm 0,02$ ila $17,65 \pm 0,04$ arasında olduğunu bildirmişlerdir. Kuru madde açısından manda-inek sütü kefir ve manda-keçi sütü kefir dışındaki örnekler arasında anlamlı bir benzerlik saptanmamıştır. 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 olduğunu tespit etmişlerdir (56).

Ateş, çalışmada sade ve meyveli kefir örneklerinin kuru madde miktarlarını sırasıyla $10,22$ ve $14,94$ olduğunu tespit etmiştir (109). Öksüztepe ve arkadaşları ise, çalışmalarında sade, meyveli ve light kefir örneklerinin kuru madde miktarlarının sırasıyla $10,00 \pm 0,84$; $13,74 \pm 1,43$; $7,90 \pm 0,14$ tespit etmişlerdir (110). Ünal ve arkadaşları ticari kefir örneklerinin kuru madde değerlerini $8,71$ ila $10,68$ arasında olduğunu tespit etmişlerdir (112). Gursoy ve arkadaşları, ticari kefirlerin fizikokimyasal ve reolojik özelliklerini araştırdıkları çalışmada kefir örneklerinin kuru madde değerlerini $9,49 \pm 0,10$ ila $11,97 \pm 0,07$ arasında olduğunu ve örnekler arası farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir (113). Mutluer Yalçın, havuç lifi ile zenginleştirilen kefirler üzerine yaptığı çalışmada kontrol grubu

kefirlerin kuru madde oranını %10,69 olduğunu bildirmiştir (117). Bengi, propolis ilaveli kefir üretimi ve 8 günlük depolama periyodundaki değişimini incelediği çalışmada örneklerin depolamadan bağımsız olarak kuru madde miktarlarını %16,91 ile 17,20 arasında olduğunu ve örnekler arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığını bildirmiştir (118).

Sayın Yatık, 5 farklı kefir danesi kullanarak ürettiği kefirlerin kuru madde miktarlarının %11,46 ile 11,54 arasında değiştiğini örnekler arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığını bildirmiştir (107). Ufaşeker, endüstriyel ve geleneksel yöntemlerle üretilmiş kefirlerin ve depolama süresince fiziko-kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerini incelediği çalışmada kefir örneklerinin kuru madde miktarlarının ortalama $10,55 \pm 0,62$ ile $12,18 \pm 0,51$ arasında olduğunu ve ortalamalar arası farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmiştir (116).

Çalışmamızda kefir örneklerinin kuru madde miktarları EK, SK ve KD örnekleri için sırasıyla $10,20 \pm 0,34$, $11,27 \pm 0,16$ ve $11,25 \pm 0,15$ olduğu belirlenmiştir. Bu değerlerde literatür bilgileri ile uyum göstermektedir. Kefirin üretim tekniği, kullanılan sütün çeşidine, üretim esnasında uygulanan standardizasyon ve diğer işlem parametrelerindeki farklılıkların kefirin kuru madde miktarını etkileyebileceği gözden kaçırılmamalıdır.

5.4 Kefirlerin Yağ Miktarı Değerleri

Sayın Yatık, 5 farklı kefir danesi kullanarak ürettiği kefirlerin yağ miktarlarının %3,26 ile 3,30 arasında değiştiğini ve örnekler arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığını bildirmiştir (107). Kırmaz ve arkadaşları, manda sütü ve %70 manda sütü ile %30 diğer cins hayvan sütlerinin (inek, koyun, keçi ve bunların karışımı) karıştırılması ile ürettikleri 5 farklı kefir örneğindeki yağ oranlarının $5,95 \pm 0,07$ ile $6,85 \pm 0,07$ arasında olduğunu bildirmişlerdir (108). Akdan ve arkadaşları manda sütü ve %70 manda sütü ile %30 diğer cins hayvan sütlerinin (inek, koyun, keçi ve bunların karışımı) karıştırılması ile ürettikleri 5 farklı kefir örneğindeki yağ miktarlarının $5,95 \pm 0,07$ ile $6,85 \pm 0,07$ arasında olduğunu,

kefirlerin yağ oranlarının büyük bir değişim göstermediğini bildirmişlerdir. Yüksek yağ oranına sahip manda ve koyun sütleriyle üretilen kefirlerin yağ oranlarının yakın olduğunu tespit etmişlerdir (56).

Mutluer Yalçın, havuç lifi ile zenginleştirilen kefirlerde kontrol grubu kefirlerin yağ oranını % 1,60 olduğunu bildirmiştir (117). Bengi ise, propolis ilaveli kefir üretimi ve 8 günlük depolama periyodundaki değişimini incelediği çalışmada örneklerin yağ miktarlarını %2,60 ila 2,67 arasında olduğunu bildirmiştir (118).

Ünal ve arkadaşları, ticari kefir örneklerinin yağ miktarlarını %0,55 ila 2,90 arasında olduğunu bildirmişlerdir (112). Gursoy ve arkadaşları ise çalışmalarındaki ticari kefir örneklerinin yağ miktarlarının %2,50-3,00 arasında olduğunu ve örnekler arası farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir (113). Ateş, çalışmada sade ve meyveli kefir örneklerinin yağ miktarlarını %2,24 ve %1,86 olarak tespit etmişken, analiz sonuçlarına göre Aydın ili piyasasında bulunan kefiirlere ait yağ değerleri ile titrasyon asitliği değerlerinin tebliğe uygun olduğunu bildirmiştir (109). Öksüztepe ve arkadaşları, sade, meyveli ve light kefirlerde sırasıyla %2,53±0,41; %2,13±0,48; %1,00±0,00 olarak tespit etmişlerdir. İstatistiki olarak gruplar arasındaki farklılıkların önemli olduğunu bu farklılıkların muhtemelen kefir üretiminde kullanılan sütün standardizasyonundan kaynaklanabileceğini tahmin ettiklerini bildirmişlerdir (110).

Ufakşeker, endüstriyel ve geleneksel yöntemlerle üretilmiş kefirlerin ve depolama süresince fiziko-kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerini incelediği çalışmada kefir örneklerinin yağ miktarlarının ortalama %2,48±0,03 ile %3,50±0,00 arasında olduğunu ve ortalamalar arası farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmiştir (116).

Çalışmamızda EK örneklerinin yağ miktarları ortalama %2,68±0,30, SK örneklerinin %2,90±0,12 ve KD örneklerinin %2,87±0,08 olduğu belirlenmiş olup tüm örneklerde Tebliğ'de yer alan kütlece en fazla %10 değerini karşılamaktadır.

5.5 Kefirlerin Protein Miktarı Değerleri

Kirmaz ve arkadaşları manda sütü ve %70 manda sütü ile %30 diğer cins hayvan sütlerinin (inek, koyun, keçi ve bunların karışımı) karıştırılması ile ürettikleri 5 farklı kefir örneğindeki protein miktarlarının $4,04 \pm 0,02$ ile $4,70 \pm 0,01$ arasında olduğunu bildirmişlerdir (108).

Gursoy ve arkadaşları, çalışmalarında kullandıkları ticari kefir örneklerinin protein miktarlarını $2,30 \pm 0,16$ ile $3,44 \pm 0,11$ arasında olduğunu ve örnekler arası farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir (113).

Mutluer Yalçın, havuç lifi ile zenginleştirilen kontrol grubu kefirlerin protein oranını %3,26 olduğunu bildirmiştir (117). Bengi, propolis ilaveli kefir örneklerinin protein miktarlarını %2,80 ile %3,26 arasında olduğunu belirlemiştir. Literatürde kefirlerin protein içeriklerine ilişkin olarak bildirilen değerler ile yaptıkları çalışmanın sonuçları arasındaki farklılıkların hammadde olarak kullanılan süt ve çeşnili kefir üretiminde kullanılan bileşenlerin protein içeriklerindeki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceğinin düşünüldüğünü bildirmiştir (118).

Çalışmamızda EK grubu kefirler içerisinde protein miktarının ortalama $2,79 \pm 0,16$, SK kefirlerin ortalama $2,39 \pm 0,42$ ve KD kefirlerin ise ortalama $2,02 \pm 0,33$ olduğu belirlenmiştir. Literatürde yer alan araştırmalarda zaman zaman ticari kefir örneklerinin protein oranlarının Tebliğ’de yer alan kütlece en fazla %2,7 oranını geçtiği görülmektedir. Çalışmamızda da EK ve SK grubu kefir örneklerinde üst değerlerinin bu değerin çok az üzerinde olduğu görülmüştür.

5.6 Kefirlerin Kül Miktarı Değerleri

Tebliğ’de kefir örneklerinde bulunması gereken kül miktarı ile ilgili herhangi bir değer bulunmamaktadır. Kül miktarı genellikle besin maddelerinde inorganik madde miktarı olarak tanımlanmaktadır. Ürünlerde çok fazla miktarda olması arzu edilmez. Çünkü bu değer ürünlerin hijyenik şartlarda üretilmediklerinin ve insan sağlığına

zarar verebilecek bazı inorganik maddeleri içerebildiğinin bir göstergesi olarak kabul görmektedir (110). Kırmaz ve arkadaşları manda sütü ve %70 manda sütü ile %30 diğer cins hayvan sütlerinin (inek, koyun, keçi ve bunların karışımı) karıştırılması ile ürettikleri 5 farklı kefir örneğindeki kül miktarlarının $0,74 \pm 0,04$ ila $0,98 \pm 0,04$ arasında olduğunu bildirmişlerdir (108). Kefirlerin kül miktarlarını incelediklerinde, manda sütü kefiri ve manda-keçi sütü kefirinin benzer özelliklere sahip olduğunu manda-koyun sütü kefiri ve manda-inek-koyun-keçi sütü kefirinde birbirine benzer kül miktarları olduğunu belirlemişlerdir (56).

Ufakşeker çalışmada endüstriyel ve geleneksel yöntem ile üretilen kefir örneklerinin kül miktarlarının ortalama $0,229 \pm 0,007$ ile $0,775 \pm 0,072$ arasında olduğunu ve ortalamalar arası farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmiştir (116).

Ateş, çalışmada sade ve meyveli kefir örneklerinin kül miktarlarının $0,68$ ve $0,65$ olduğunu tespit etmişlerdir (109). Öksüztepe ve arkadaşları ise sade, meyveli ve light kefir örneklerinin ortalama yağ miktarlarını sırasıyla $1,01 \pm 1,09$; $0,86 \pm 0,08$; $0,51 \pm 0,09$ olarak belirlemişlerdir (110).

Çalışmamızda EK örneklerinin kül miktarı $0,64 \pm 0,06$, SK örneklerinin $0,67 \pm 0,02$ ve KD örneklerinin $0,67 \pm 0,05$ olduğu belirlenmiştir. Bulunan bu değerler literatürde yer alan ve geniş bir aralıkta bulunan kül miktarları değerleri ile uyumludur.

5.7 Kefirlerin DPPH Radikal Süpürme Kapasitesi Değerleri

Bengi, propolis ilaveli kefir örneklerinin antioksidan aktivitelerini ABTS (2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat) yöntemi kullanarak belirlemiştir. Kontrol grubu kefir örneklerinde antioksidan aktivite değerinin $2,12 \pm 0,20$ (μmol Trolox eşdeğeri/100 mL) olarak belirlemiştir. Depolamanın başlangıcında $2,19 \pm 0,20$ (μmol Trolox eşdeğeri/100 mL) olan antioksidan aktivitenin 8. gün depolamanın sonunda $1,97 \pm 0,14$ (μmol Trolox eşdeğeri/100 mL) değerine

düşüğünü bildirmiştir. Bu ortalamalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmiştir (118).

Üstün-Aytekin ve arkadaşları kefirin gastrointestinal sindiriminin çeşitli biyoaktif bileşiklerde önemli bir artışa yol açtığını bildirmişlerdir. Bu, sindirim sürecinin kefirdeki fenolik bileşiklerin varlığını serbest bıraktığını veya arttırdığını göstermektedir. Antioksidan aktivitenin bir ölçüsü olan DPPH, sindirilmemiş kefirde %4,20'den sindirilmiş kefirde %63,06'ya yükselmiştir. Bu, gastrointestinal sindirimden geçtikten sonra kefirin daha güçlü bir antioksidan haline geldiğini gösterir (119). Bu çalışma, DPPH değerleriyle ölçülen kefirin antioksidan aktivitesinin, farklı gastrointestinal sistem bölgelerinde ve farklı zaman aralıklarında, özellikle mide ve ince bağırsakta değişebileceğini göstermektedir. Bu farklılıklar kefirin türü ve sindirim süresi gibi faktörlerden etkilenebilir. Ağız örneğinde tespit edilen tek madde tükürük ve kefirdir. Zamanla mide ve ince bağırsak bölgelerinden salgılar (sırasıyla mide ve ince bağırsak tampon çözeltisi) eklenir. pH seviyesini düzenlemek için sisteme eklenen HCl ve NaOH miktarları da bu bölümlerden alınan numunelerde seyreltmeye neden olmuştur. Ayrıca antioksidan etkiye sahip biyoaktif bileşiklerin çevre koşulları değiştikçe kimyasal değişimlere uğradığı düşünülmektedir. DPPH değerlerindeki düşüşün nedeninin bu olduğu düşünülmektedir. SK ve KD kefir numunelerinin üretiminde aynı marka ve parti numarasına sahip pastörize inek sütü kullanıldı. Şekil 5'te görüldüğü gibi KD kullanılarak üretilen kefir, SK kullanılarak üretilen kefire göre daha fazla antioksidan aktiviteye sahiptir. Bunun SK ve KD kefir üretimindeki mikroorganizmaların çeşitlilik açısından farklılık göstermesinden kaynaklanmaktadır.

5.8 Kefirlerin Canlı *Lactobacillus* ve *Lactococcus* Sayıları

Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus (LLP) bakterileri laktik asit bakterileri grubundan olup ürünlerin kendilerine has lezzeti, aroması ve dayanma süresi üzerine etki eden bakterilerdir. Kefir de fermente bir süt ürünü olduğu için laktik asit bakterilerinin aranması önem arz etmektedir. Özellikle bu grup bakteriler kefirin ana kaynağını oluşturan bakteri grubudur (110). Literatürde Brezilya, Arjantin, İrlanda ve

Türkiye kefir daneleri de dahil olmak üzere pek çok kefir danesinin kökeni bildirilmektedir. İlk bakışta farklılıklar çok az gibi görünse de, geçtiğimiz yıllarda yapılan moleküler analizler sonucunda mikrobiyolojik mikroflorada gözle görülür farklılıklar olduğu ortaya çıkmıştır (120).

Öksüztepe ve arkadaşları yaptıkları araştırmada sade, meyveli ve light kefir numunelerinde LLP sayısının ortalama olarak sırasıyla $7,33 \pm 0,29$; $6,86 \pm 0,76$; $7,64 \pm 0,33$ log kob/mL düzeyinde olduğunu belirlemişlerdir ve sade ile light kefir örneklerinin tebliğe uygun olduğunu ifade etmişlerdir. Sade ile meyveli gruplar arasında tespit edilen farklılığın istatistiki olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir. Sade ve light kefirlerin 25 (%100) danesinin meyveli kefirlerin ise 21 (%84) danesinin >6 log₁₀ kob/mL düzeyinde LLP içerdiğini, meyveli örneklerin 4 danesinde ise LLP sayısının <6 log/kob olduğunu bildirmişlerdir. Bu durumun üretim prosesinde ortaya çıkmış olabilecek bir sorundan kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Bu alanda yapılan çalışma sonuçlarıyla mevcut çalışma sonuçları arasındaki farklılıkların kefirin yapımında kullanılan starter kültür kombinasyonunun farklılığından, kefirin üretim tekniğinden ve inkübasyon sıcaklığının farklılığından kaynaklanma ihtimali bulunduğunu ifade etmişlerdir (110).

Çirpici ve Çetin, Erzurum piyasasında satılan ticari kefir örneklerinin *Lactobacillus* sayılarının 8,76 ile 9,02 log kob/mL arasında olup ortalama değerinin 8,88 log kob/mL olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada *Lactococcus* sayısının 6,60–8,92 log kob/mL arasında değişmekte olduğunu ortalama olarak 8,10 log kob/mL seviyesinde bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada kullanılan tüm kefir örneklerinin *Lactobacillus*, *Lactococcus* ve maya-küf sayılarının Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde belirtilen değerlere uygun olduğunu bildirmişlerdir (111). Ateş, Aydın piyasasında satılan sade ve meyveli kefir örneklerinin *Lactobacillus* sayılarını sırasıyla $6,84 \pm 0,23$ ve $6,65 \pm 0,68$ log kob/mL olduğunu *Lactococcus* sayılarının ise sırasıyla $7,12 \pm 0,28$ ve $7,05 \pm 0,32$ log kob/mL olduğunu bildirmiştir (109). Çıray, yaptığı çalışmada ticari kefirlerin *Lactobacillus* sayılarını sade örneklerde $7,12 \pm 0,59$, meyveli örneklerde $7,40 \pm 0,58$ ve light örneklerde $7,50 \pm 0,85$ log kob/mL olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada *Lactococcus* sayılarını da sırasıyla $8,35 \pm 0,42$,

8,38±0,49, 8,23±0,53 olduğunu tespit etmiştir. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde *Lactobacillus* ve *Lactococcus* için herhangi bir yasal limit bulunmadığını ifade ederek çalışmada elde edilen verilerle kefir örneklerinin *Lactococcus* ve *Lactobacillus* yükü açısından kriterlere uyduğunu bildirmiştir (121).

Mutluer Yalçın havuç lifi ile zenginleştirilen kefirlerin *Lactobacillus* sayılarının 7,99-10,83 log kob/mL arasında olduğunu bildirmiştir. Depolama süresi boyunca da laktik asit bakterileri sayısında bir düşüş olduğunu bu düşüşün istatistiki olarak anlamlı olduğunu bildirmiştir. Depolama sonunda meydana gelen asitlik artışına bağlı olarak kefir örneklerindeki laktik asit bakteri sayısında 0,98-1,51 log civarında azalmanın gözlemlendiğini bildirmiştir. *Lactococcus* sayılarının ise 9,20 ila 10,49 log kob/mL seviyesinde olduğunu tespit etmiştir. Benzer şekilde depolama süresince *Lactococcus* spp. sayılarının da yaklaşık olarak 0,30-1,21 log seviyesinde düşüş gösterdiğini bildirmiştir (117). Bengi ise, propolis ilaveli kefir örneklerinin *Lactobacillus* sayılarının depolama başlangıcında kontrol grubu kefir örneklerinde 6,40±0,07 log kob/mL olduğunu 8. gün depolamanın sonunda ise 6,17±0,12 log kob/mL seviyesinde olduğunu bildirmiştir. İki ortalama arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığını bildirmiştir. *Lactococcus* sayıları açısından yine depolama başlangıcında 8,40±0,02 log kob/mL depolama sonunda ise 8,21±0,19 log kob/mL olduğunu bildirmiştir. Yine her iki ortalama arasındaki farkın önemli olmadığını ifade etmiştir (118). Güzeler ve arkadaşları kefir, kefir yoğurdu, nohutlu yoğurt karşılaştırması yaptığı çalışmada kefir örneğinin laktik asit bakteri sayısının 7,45±1,52 log kob/mL olduğunu bildirmişlerdir (114).

Sayın Yatık, 5 farklı kefir danesi (Çanakkale, Kırgız, Erciyes, Kafkas, Tibet) kullanarak ürettiği kefirlerin *Lactobacillus* sayılarının 8,16 ila 8,51 log kob/mL arasında olduğunu *Lactococcus* sayılarının ise 8,14 ila 8,28 log kob/mL arasında değiştiğini örnekler arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu bildirmiştir. Kefir örneklerinin mikroorganizma sayımı sonucunda gruplar arası önemli farklılığın danelerin kökenlerinin farklı olmasından kaynaklandığı görüşüne varmışlardır (107). Ufakşeker, endüstriyel ve geleneksel yöntemlerle ürettiği kefir örneklerinin *Lactobacillus* sayılarının ortalama 7,04±0,01 ile 9,88±0,08 log kob/mL arasında

olduğunu ve *Lactococcus* sayılarının da $7,30 \pm 0,01$ ila $10,38 \pm 0,08$ log kob/mL arasında değiştiğini depolama esnasında tüm örneklerde 8. güne kadar bir artış olduğunu sonrasında bazı örneklerde 15. günde azalış eğiliminde olduklarını bildirmiştir (116).

Onaran ve Çufaoğlu, ticari kefir numuneleri ile ev tipi kefir numunelerinin bakteri sayılarının genel olarak benzer miktarda laktik asit bakterisi, *Lactococcus* ve maya içerdiğini, ticari kefir numunelerinde laktik asit bakterisi ve mayaya göre daha yüksek miktarda *Lactococcus* bulunduğunu bildirmişlerdir (106). Yirmibeşoğlu ve Tefon Öztürk, ticari ve lokal kefir danelerinden elde edilen kefirlerin mikrobiyolojik profillerini incelemişlerdir. Buna göre dane ile ürettikleri kefirde *Lactococcus* sayısını $7,1 \times 10^8$ kob/mL (8,85 log kob/mL), *Lactobacillus* sayısı $2,2 \times 10^8$ kob/mL (8,34 log kob/mL) olarak tespit etmişlerdir ve tebliğe uygun olduğunu bildirmişlerdir. Ticari kefir örneklerinin *Lactococcus* sayısının $8,4 \times 10^8$ kob/mL (8,92 log kob/mL), *Lactobacillus* sayısının ise $1,1 \times 10^8$ kob/mL (8,04 log kob/mL) olduğunu bildirmişlerdir. Lokal dane ile ticari daneden elde edilen örneklerin mikrobiyolojik analiz sonuçlarını mukayese ettiklerinde toplam aerobik mezofilik bakteri ve *Lactococcus* sayısının ticari kefir örneklerinde daha yüksek olduğunu toplam maya, *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* sayılarının ise lokal kefir örneklerinde daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçların danelerin kompozisyonlarının farklı olduğundan ileri geldiğini ifade etmişlerdir (66).

Vamanu, altı farklı probiyotik suşunun (*Weissella paramesenteroides* FT1a, *Lactobacillus* sp. 34.1, *Lactobacillus rhamnosus* [L. rhamnosus] E 4.2, *Lactobacillus* sp. 18.1, *Lactobacillus fermentum* [L. fermentum] 428ST ve *Lactobacillus plantarum* [L. plantarum]) gastrointestinal simülatörden geçişe karşı direncini değerlendirmiştir. Midede 1 saat kaldıktan sonra çoğu suş için, özellikle de kontroller için (L. plantarum 5s ve *Escherichia coli* CBAB 2) hücre canlılığında önemli bir azalma kaydedilmiştir. Çoğu suş, duodenal seviyede 2-3 saatlik sindirimden sonra canlılıkta en önemli düşüşü göstermiştir. En büyük kaybı *Lactobacillus* sp. 18.1 yaşamıştır. L. fermentum 428ST geçiş sırasında nispeten yüksek canlılık gösterirken diğer suşlar değişen derecelerde canlılık kaybı göstermiştir (122). Çalışma, in vitro

gastrointestinal geçişin zorluklarına dayanabilecek probiyotik türlerinin seçilmesinin ve bunların hayatta kalmasında bazı metabolik faktörlerin rolünün önemini vurgulamıştır. Ayrıca, bu alanda gelecekteki araştırmalar için yollar önermiştir.

Marteau ve arkadaşları, her biri farklı türde mikroorganizmalar içeren iki fermente süt ürününü araştırmışlar. Ofilus® ürünü *Bifidobacterium bifidum* ve *Lactobacillus acidophilus* [*L. acidophilus*], yoğurt ise *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* [*L. delbrueckii*] ve *Streptococcus thermophilus* [*S. thermophilus*] mikroorganizmalar. Midede, mide suyunda ve ileumda düşük ve yüksek safra konsantrasyonları gibi farklı durumlarda mikroorganizma türlerinin hayatta kalma oranını değerlendirdiler. Mide bölmesi, yoğurt ürününde *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* yalnızca kısa bir süre için destekleyebilmektedir. Kırk dakika sonraki canlılık, Ofilus® ürünündeki *L. acidophilus* ve *B. bifidum* mikroorganizma sayılarında önemli ölçüde daha düşük; 70 ve 110 dk içinde canlı sayımlar tüketilen bakteri sayısının <%1'ine düştüğü saptanmıştır. Tüketilen *L. acidophilus* ve *B. bifidum* %40'ından fazlası 120 dk sonra mide bölmesinde canlı kalmıştır. Modeldeki *B. bifidum* ve *L. acidophilus* kümülatif hayatta kalma oranı, daha önce insan çalışmalarında gözlemlenene benzer bulunmuştur ve farklı faktörlerin bakteriyel canlılığı nasıl etkilediğine dair bilgiler sağlamaktadır (123). Çalışmamıza benzer şekilde, sindirimin farklı aşamalarında ve çeşitli koşullar altında ürünler arasında hayatta kalma oranlarındaki farklılıklar vurgulandı. Bu çalışmada kullanılan kefir türleri ne olursa olsun (EK, SK veya KD), ağız bölgesinden ince bağırsak bölgesinin son saatine kadar *Lactobacillus* ve *Lactococcus*'un canlılığında azalma gözlenmiştir. Ancak değerler arasındaki farklılık kefir üretiminde kullanılan mikroorganizmaların çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır.

Sharp ve arkadaşları yoğurttaki *Lactobacillus casei* [*L. casei*] 334e (pH 2,0) asit stresine karşı direncinin peynirde (pH 2,0) tespit edilenden daha düşük olduğunu bildirmiştir. Bu durumun olası nedeninin, yoğurdun pH seviyesinin daha düşük olması (pH 4,3) nedeniyle, yoğurtta depolama sırasında *L. casei* 334e'nin ölümcül olmayan hasar olasılığının, az yağlı peynire (pH 5,1) göre daha yüksek olabilmesi olduğunu açıkladılar. Yoğurttaki canlı *L. casei* takviyelerinin sayısı, 30 dk boyunca

pH 2,0 seviyesine maruz bırakıldığında yaklaşık 10^7 'den $<10^1$ kob/g'a düşerken, az yağlı peynirdeki *L. casei* 334e sayısı 30 dk içinde yalnızca yaklaşık 10^5 kob/g'a düşmüştür. Aynı maruziyet devam ettirildiğinde 120 dk sonra yaklaşık 10^4 kob/g seviyesinde kaldığını belirlenmiştir (124). Bu çalışmada kullanılan EK ürünlerinin ortalama başlangıç pH değerleri yaklaşık $4,33 \pm 0,92$ (min 4,32– maks 4,44) idi. SK ve KD ürünlerinin ortalama başlangıç pH değerlerinde farklılıklar tespit edildi (sırasıyla $5,25 \pm 0,51$ (min 4,89–maks 5,25), $4,52 \pm 0,35$ (min 4,17–maks 5,13). Kullanılan kefir ürünlerinin başlangıç pH değerleri ne olursa olsun ürünlerdeki canlı *Lactobacillus* ve *Lactococcus* başlangıç sayıları benzerdi. Düşük pH seviyesi, kefirin depolanması ve gastrointestinal sistem yoluyla taşınması sırasında probiyotik mikroorganizmaların gelişmesini ve hayatta kalmasını etkileyen ana faktörlerden biridir. Fermente besinlerdeki çözünmemiş organik asitlerin miktarı çok düşük pH değerlerinde artar, böylece bu asitlerin bakterisidal etkisi artar. Düşük pH seviyelerine tolerans suşlara göre değişir. Araştırma bulguları, KD ve SK örneklerinde ağız ve mide bölgesi arasındaki canlı *Lactobacillus* koloni sayısında EK grubuna göre daha fazla düşüş olduğunu göstermektedir. Çalışmanın sonuçları incelendiğinde, KD ve SK örneklerinde ağız ve mide bölgeleri arasındaki canlı *Lactobacillus* koloni sayısında (sırasıyla 9,84'ten 7,08'e ve 10,35'ten 8,69'a), EK grubuna göre (9,98 ila 9,12) daha yüksek bir düşüş olduğunu göstermektedir. Kefir numunesi üretiminde kullanılan çeşitli suşlara atfedilebilecek canlı *Lactococcus* sayısında da benzer farklılıklar kaydedilmiştir (Tablo 10 ve 12).

Çomak-Göçer ve arkadaşları, canlı *L. acidophilus* sayısındaki azalmanın süt ürünlerinin türünden, gastrointestinal model koşullarından ve depolama süresinden önemli ölçüde etkilendiğini bildirmiştir. *L. acidophilus* sayısında en fazla azalmanın yoğurt örneğinde olduğunu, bunu fermente acidophilus sütü, beyaz turşulu peynir ve dondurma örneğinde tespit etmişlerdir. Örneklerdeki iki *L. acidophilus* suşunun canlılığı göz önüne alındığında, *L. acidophilus* dondurma örneklerinin dinamik *in vitro* gastrointestinal modelin zorlu koşullarına daha dirençli olduğunu; ancak *L. acidophilus* yoğurt örnekleri aynı model koşullarına daha az dirençliydi. Ayrıca, yoğurt örneğinde *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* için bir azalma gözlemlendiğini; ancak, *S. thermophilus* sayısındaki azalma daha belirgindi ve canlı *S. thermophilus*

hücrelerinin sayısı, dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçtikten 180 dk sonra belirlenememiştir. Bu nedenle yoğurt üretiminde kullanılan *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşunun dinamik *in vitro* gastrointestinal modelin zorlu koşullarına yoğurt üretiminde kullanılan *S. thermophilus* suşundan daha dayanıklı olabileceğini belirtmişlerdir (125).

Vinderola ve Reinheimer, 24 laktik asit başlatıcı kültürünün, 24 probiyotik bakteri suşunun ve bariyerlerin (mide suyu ve safra tuzları) probiyotik özelliklerini ve biyolojik direncini değerlendirmişler. İncelenen probiyotik bakterilerden *L. acidophilus*'un mide suyuna ve safraya karşı yüksek direnç gösterdiğini bildirmişlerdir. Tersine, değerlendirilen başlangıç türleri arasında *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* en iyi probiyotik özelliklere sahip laktik asit starter kültür olduğunu tespit etmişlerdir. Mide suyuna ve safraya dayanıklıdır. Ayrıca safra tuzlarının varlığının, laktik asit başlatıcı bakterileri probiyotik organizmalardan daha fazla inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada %0,5 safra tuzunun çoğu suşu inhibe etmesi nedeniyle birinci gruptaki bakteriler arasında en duyarlı türün *S. thermophilus* olduğu belirlenmiştir. Tüm probiyotik bakteri suşları genellikle %1'lik safra tuzlarına az çok dirençliydi. Yine yaptıkları çalışmada laktik asit starter kültürlerini değerlendirirken, her iki pH değerinde de simüle mide suyuna probiyotik bakterilere göre daha az direnç gösterdiklerini bildirmişlerdir. Birinci gruptaki tüm suşlarda (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Eb4 ve *Lc. lactis* Mo12 hariç) pH 2,0 seviyesinde en az 6,0 log'luk bir düşüş yaşanırken, pH 3,0 seviyesinde hücre canlılığında en fazla azalma *S. thermophilus*'ta tespit edilmiştir. Bu düşüşü *Lc. lactis* ve *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un takip ettiğini bildirmişlerdir. *Lb. acidophilus*, probiyotik bakteriler arasında en dirençli tür olduğu ve pH 2,0 ve 3,0 düzeylerinde hücre canlılığında sırasıyla 3,4–5,0 log düşüş ve 0,7–3,3 log kayıp yaşadığı tespit edilmiştir. Bifidobakteriler için bu değerler, pH 2,0 seviyesinde 3,3 ila 6,0 log'luk bir düşüş ve pH 3,0 seviyesinde 0,8 ila 2,3 log'luk bir düşüş arasında değişmekteyken, *Lb. casei* ve *Lb. rhamnosus* suşları, pH 2,0 seviyesinde 5,0 log'dan fazla bir düşüş ve pH 3,0 seviyesinde 2,7-5,9 log'luk bir düşüş yaşanmıştır (126). Benzer şekilde bu çalışmada da pH seviyesindeki değişikliklere bağlı olarak laktik asit bakterilerinin sayısında azalmalar tespit edilmiştir. Özellikle fermente süt ürünlerinin toplam

probiyotik değeri, simülasyonda kullanılan mide ve ince bağırsak tampon çözeltilerinin yanı sıra insan vücudundaki laktik asit başlatıcı mikrofloranın probiyotik katkısını da dikkate almalıdır.

Lo Curto ve arkadaşları, besin matrisi olarak su kullanılarak simüle edilmiş dinamik gastrik ve duodenal sindirimin ardından, *L. acidophilus johnsonii*'nin duodenal bölgede ilk saatten ikinci saate kadar logaritmik fazda arttığını ve 2 saat sonra duodenum sindirimi azaldığını bildirmiştir. *L. casei shirota* ve *L. casei immunitas* alımında besin matrisi olarak su kullanıldığında 1 ve 2 saatlik duodenal sindirimden sonra logaritmik fazda bir azalma tespit etmişler. Ayrıca, besin matrisi olarak su kullanıldığında, logaritmik fazda hayatta kalmanın, suyun pH değerleriyle önemli ölçüde ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Sütle birlikte tüketildiğinde aynı probiyotik suşlarının hayatta kalma oranı, pH seviyesi veya suş verileri üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Çalışmalarında kullandıkları üç suş arasında bazı farklılıklar bulunduğunu ve genel olarak sütte suya göre daha yüksek hayatta kalma oranlarının gözlemlendiğini bildirdiler. Ayrıca bu gözlemin suyun tamponlama kapasitesinin sütünkenden daha düşük olmasına bağlanabileceğini bildirdiler. Sütün tamponlayıcı etkisinin suşları mide ve duodenum ortamının zararlı etkilerinden koruyabildiğini belirtmişlerdir. Laktik asit üretimi, fermentasyon ürünü olarak laktoz salgılayan bakterilerin adaptasyonunun önemli bir göstergesi olduğundan, probiyotik suşlarının hayatta kalması, laktik asit üretiminin ölçülmesiyle elde edilen verilerle doğrulanmıştır (127).

Pitino ve arkadaşları altı *L. rhamnosus* suşunun simüle edilmiş *in vivo* sindirimi sırasında *Lactobacillus* taşıyıcı araç olarak kullanılmasıyla iyi hayatta kalma oranlarının gözlemlendiğini göstermiştir. Bu altı probiyotik suşu, dinamik bir gastrik sindirim modeli aracılığıyla insanın üst gastrointestinal sisteminde hayatta kalma yetenekleri açısından araştırıldı. Dağıtım aracı olarak MRS sıvı besiyeri kullanılmış ve *in vitro* mide ve mide artı duodenal sindirim sırasında hayatta kalma seviyeleri araştırılmıştır. Mide sindirimi sonunda pH değerlerinde anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. Bakteri sayısındaki azalma genel olarak mide sindirimi sonunda pH 2,5'un altına düştüğünde daha net gözlemlenmiştir. Sonuçlar, test edilen tüm suşların

mide ve duodenal sindirim sırasında iyi oranda canlı hücre gösterdiğini vurguladı. Verilerle tutarlı olarak, tüm suşlar için yüksek laktik asit üretimi tespit edildi, bu da onların sindirim sırasındaki metabolik aktivitelerini gösterir (128).

Mainville ve arkadaşları besin matrisini dahil ederek *in vitro* gastrointestinal sistem ve üst gastrointestinal sistemin sindirim özelliklerini incelemişlerdir. İnsanlardan, hayvanlardan ve fermente süt ürünlerinden izole edilen bakterilerin canlılık durumunu değerlendirmişlerdir. Dinamik modeldeki bazı suşlar için canlılık seviyelerinin önemli ölçüde arttığını gözlemlemişlerdir. Her iki yöntem kullanılarak iki suş (*Bifidobacterium Animalis* ATCC 25,527 ve *Lactobacillus johnsonii* La-1 NCC 533) için iyi canlılık gözlenmiştir. Dinamik modelin, gastrik asiditeyi tamponlamak için besin matrisini dâhil ederek, bakterileri yemekten önce, yemek sırasında ve sonrasında *in vivo* olarak belirtilen pH seviyelerine maruz bırakarak, üst gastrointestinal sistem geçişi sırasındaki olayları geleneksel yöntemlere göre daha iyi temsil ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, dışarıdan alınan probiyotik suş takviyeleri yerine kefir ürünlerinin tüketiminin, mide asiditesini tamponlamanın daha iyi bir yolu olduğunu ileri sürmektedir (11). Ancak bunun yeni çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Klindt-Toldam ve arkadaşları, üst gastrointestinal sistemin *in vitro* statik modelindeki deneyler sırasında sütlü çikolata ve %72 bitter çikolatadaki *Lb. acidophilus* NCFM® ve *B. lactis* HN019 probiyotik karışımının farklı probiyotik konsantrasyonlarında canlılığını karşılaştırmışlar. Plaka sayımları *Lactobacillus* canlılığında önemli bir azalma ($p < 0,05$) göstermiştir. Tüm çikolata örnekleri için *Lb. acidophilus* NCFM® ve *B. lactis* HN019'un canlılığı simüle edilmiş sindirim sırasında daha az azalmıştır. Genel olarak, 65 dk.'lık sindirim sırasında her iki suşun hayatta kalması kabul edilebilir düzeydeydi ve 6,5 log kob/g'ın üzerinde olduğu belirlenen bir istisna dışında, çikolata türü ne olursa olsun tüm probiyotik konsantrasyonları arasında nispeten paraleldir. Sütlü çikolatada (probiyotik konsantrasyonu 2×10^8 kob/g), *Lb. acidophilus* NCFM® canlılığını yalnızca 35 dk'ya kadar koruyabilirken, bu sürenin sonunda pH seviyesi 2,0'ın altına düştüğünde 3 log'luk bir düşüş tespit edilmiştir. Ancak *B. lactis* HN019 için aynı etki

gözlenmemiştir ve bunun muhtemelen *B. lactis* HN019'un asit dirençli özelliklerinden kaynaklandığını bildirdiler. Sıtlı ikolatanın içerdiği sıt, bitter çikolataya göre daha yüksek tamponlama kapasitesine sahiptir (129).

Jensen ve arkadaşları *L. plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus gasseri*, *L. rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri* ve *Pediococcus pentosaceus* suşları üzerinde çalışmalar yürütmüşler. Simüle edilmiş gastrik geçiş toleransını takiben canlı hücre sayımı sonucunda, *L. reuteri* suşları ve *P. pentosaceus* mide suyunu iyi tolere etmiş ve canlılıklarında herhangi bir azalma kaydedilmemişken, *L. pentosus*, *L. farciminis* ve *L. sakei* suşları 180 dk sonra canlılıklarını kaybetmiştir. Test edilen tüm suşlar simüle edilmiş ince bağırsak suyunu tolere etti ve tüm suşlar, pankreatin ve safra enzimlerine karşı canlılıkta 1 log'u aşan bir azalma göstermemiştir. Kısaca, potansiyel probiyotik bakterilerin in vitro değerlendirmeleri geleneksel olarak mide ve ince bağırsağın olumsuz ortamına tolerans ve bağırsak yüzeylerine yapışma yeteneğine özel önem vermiştir. Genel olarak bir probiyotiğin nihai performans kriteri, konakçıya sağladığı sağlık yararlarıdır. Bu alışmalar dikkate alındığında bir sıt ürünü olan kefirin, üretim yöntemi ne olursa olsun tamponlayıcı etkisi nedeniyle mide ve bağırsakların olumsuz koşullarından daha az etkilendiği gözlemlenmiştir. rnlerde başlangıçta canlı mikroorganizma sayısında azalma gözlenmesine rağmen probiyotik aktivite için yeterli sayıda canlı mikroorganizmanın kolona ulaştığı belirlenmiştir (130).

6 SONUÇ

Bu çalışma, kefir danesi ile üretilmiş ev tipi 5 kefir örneği, starter kültür kullanılarak üretilmiş 2 kefir örneği, piyasadan satın alınan endüstriyel olarak üretilmiş sade 5 kefir örneği olmak üzere toplam 12 farklı kefir örnekten oluşmaktadır. Çalışmada, ev tipi ve endüstriyel tip kefirlerin sahip oldukları başlangıç probiyotik karakterli canlı laktik asit bakterilerinin sayısının tespit edilerek simüle gastrointestinal sistem boyunca canlılık durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın sonuçları aşağıda yer almaktadır:

1. EK, SK ve KD kefir gruplarında kuru madde miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$).
2. EK, SK ve KD kefir gruplarında toplam kül miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).
3. EK, SK ve KD kefir gruplarında yağ miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).
4. EK, SK ve KD kefir gruplarında protein miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$).
5. EK, SK ve KD kefir gruplarında titrasyon asitliği değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$).
6. EK, SK ve KD kefir gruplarında çözünür katı madde miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$).
7. EK, SK ve KD kefir gruplarında pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).
8. EK örneklerinin ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
9. EK örneklerinin mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).

10. EK örneklerinin ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
11. SK örneklerinin ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
12. SK örneklerinin mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
13. SK örneklerinin ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
14. KD örneklerinin ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
15. KD örneklerinin mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).
16. KD örneklerinin ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
17. EK, SK ve KD kefir gruplarında örneklerinin ağız bölgesinde 0. dk ve 2. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
18. EK, SK ve KD kefir gruplarında mide bölgesinde 0. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).
19. EK, SK ve KD kefir gruplarında mide bölgesinde 60. dk ve 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

20. EK, SK ve KD kefir gruplarında ince bağırsak bölgesinde 0. dk, 60. dk ve 120. dk DPPH radikal süpürme kapasitesi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).
21. EK, SK ve KD kefir gruplarına göre bölge DPPH radikal süpürme kapasitesi fark değerleri aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
22. EK, SK ve KD kefir gruplarında ağız bölgesi DPPH radikal süpürme kapasitesi fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).
23. EK, SK ve KD kefir gruplarında mide bölgesi DPPH radikal süpürme kapasitesi fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).
24. EK, SK ve KD kefir gruplarında ince bağırsak bölgesi DPPH radikal süpürme kapasitesi fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).
25. EK ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).
26. EK mide bölgesinde 0. dk – 30. dk – 60. dk – 120. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,001$).
27. EK ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 30. dk – 60. dk – 120. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,001$).
28. SK ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
29. SK mide bölgesinde 0. dk – 30. dk – 60. dk – 120. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
30. SK ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 30. dk – 60. dk – 120. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
31. KD ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,01$).
32. KD mide bölgesinde 0. dk – 30. dk – 60. dk – 120. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,001$).

33. KD ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 30. dk – 60. dk – 120. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,01$).
34. EK, SK ve KD kefir gruplarında ağız bölgesi 0. dk ve 2. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
35. EK, SK ve KD kefir gruplarında mide bölgesi 0. dk, 30. dk, 60 dk ve 120. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
36. EK, SK ve KD kefir gruplarında ince bağırsak bölgesi 0. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).
37. EK, SK ve KD kefir gruplarında ince bağırsak bölgesi 30. dk, 60. dk ve 120. dk pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
38. EK gruplarına göre bölge fark pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$).
39. SK gruplarına göre bölge fark pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).
40. KD gruplarına göre bölge fark pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$).
41. EK, SK ve KD kefir gruplarına göre ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
42. EK gruplarında ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
43. EK gruplarında mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
44. EK gruplarında ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
45. SK gruplarında ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).

46. SK gruplarında mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
47. SK gruplarında ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
48. KD gruplarında ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).
49. KD gruplarında mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).
50. KD gruplarında ince bağırsak 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
51. EK, SK ve KD kefir gruplarında ağız bölgesi 0. dk ve 2. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
52. EK, SK ve KD kefir gruplarında mide bölgesi 0. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).
53. EK, SK ve KD kefir gruplarında mide bölgesi 30. dk, 60 dk ve 120. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
54. EK, SK ve KD kefir gruplarında ince bağırsak bölgesi 0 dk., 30. dk, 60. dk ve 120. dk canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
55. EK gruplarına göre bölge canlı *Lactobacillus* sayıları fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
56. SK gruplarına göre bölge canlı *Lactobacillus* sayıları fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
57. KD gruplarına göre bölge canlı *Lactobacillus* sayıları fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

58. EK, SK ve KD kefir gruplarına göre ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi canlı *Lactobacillus* sayıları fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
59. EK grubu kefirlerin ağız 0. dk – 2. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
60. EK grubu kefirlerin mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).
61. EK grubu kefirlerin ince bağırsak 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
62. SK kefir gruplarının ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
63. SK kefir gruplarının mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
64. SK kefir gruplarının ise ince bağırsak bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
65. KD grubu kefirlerin ağız bölgesinde 0. dk – 2. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).
66. KD grubu kefirlerin mide bölgesinde 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$).
67. KD grubu kefirlerin ince bağırsak 0. dk – 60. dk – 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
68. EK, SK ve KD kefir gruplarına göre ağız bölgesi 0. dk ve 2. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).
69. EK, SK ve KD kefir gruplarına göre mide bölgesi 0. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

70. EK, SK ve KD kefir gruplarına göre mide bölgesi 60. dk ve 120 dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).
71. EK, SK ve KD kefir gruplarına göre ince bağırsak bölgesi 60. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).
72. EK, SK ve KD kefir gruplarına göre ince bağırsak bölgesi 0. dk ve 120. dk canlı *Lactococcus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).
73. EK kefir gruplarına göre bölge canlı *Lactococcus* sayıları fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
74. SK kefir gruplarına göre bölge canlı *Lactococcus* sayıları fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).
75. KD kefir gruplarına göre bölge canlı *Lactococcus* sayıları fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).
76. EK, SK ve KD kefir gruplarına göre ağız, mide ve ince bağırsak bölgesi canlı *Lactococcus* sayıları fark değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).

Kimyasal analiz sonuçları kefir grupları arasında kuru madde miktarı, protein miktarı, titrasyon asitliği ve çözünür katı madde miktarı değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu göstermiştir. Ancak kefir örneklerinin toplam kül ve yağ miktarları arasında önemli bir farklılık bulunamamıştır.

Çalışmada, KD grubu kefirlerin mide bölgesinde önemli bir fark olması dışında, farklı kefir türleri arasında DPPH radikal süpürme kapasitesi değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Lactobacillus ve *Lactococcus*, kefir gibi fermente ürünlerde yaygın olarak bulunan laktik asit bakterisi türleridir. Analiz, ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerindeki farklı kefir türleri (EK, SK ve KD) arasında canlı *Lactobacillus* sayılarında anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir. Ancak KD grubunda ağız ve

mide bölgelerindeki canlı *Lactobacillus* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunurken, ağız bölgesinde daha yüksek değerler ortaya çıkmıştır. EK gruplarının mide bölgesindeki canlı *Lactococcus* sayılarında da anlamlı farklılık görülmüş ve 0. dk'da 120. dk'ya göre daha yüksek değerler görülmüştür.

Genel olarak sonuçlar, farklı kefir türleri arasında bileşim ve antioksidan aktivite açısından bazı farklılıklar olduğunu, ancak kefirdeki *Lactobacillus* ve *Lactococcus* popülasyonlarının dinamik *in vitro* gastrointestinal sisteminin farklı bölgelerinde kefir türleri arasında önemli ölçüde farklılık gözlenmemektedir. Ancak bu bulguların spesifik deney ve araştırma metodolojisi bağlamında değerlendirilmesi gerekmektedir. Sonuçlar bu konuda yeni araştırmalarla desteklenebilir.

Sınırlılıklar;

Endüstriyel tip ürün seçimi 5 adet olmasına rağmen, E olarak kodlanan marka kefirde başlangıçta Fermente süt ürünü tebliğinde yer alan 10^6 kob/mL canlı mikroorganizma sayısını sağlamıştır. Ancak dinamik *in vitro* gastrointestinal sistemde mide 120. dk itibarıyla canlı mikroorganizma sayısının önemli oranda düştüğü ve bu seviyeleri ince bağırsak bölgesinde 120. dk sonuna kadar koruduğu saptanmıştır. Diğer endüstriyel tip üretim olan markalarla karşılaştırma sırasında aykırılığa neden olduğundan ve istatistiki analizlerde her zaman farklılık oluşturacağından değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Çalışma sırasında piyasada hem endüstriyel hem de starter kültürle üretilen maksimum kefir çeşidi sayısına ulaşılmıştır. Hipotezlerin test edildiği noktada ek hipotez olarak belirlenen korelasyon ve regresyon analizleri bu ürün miktarında gerçekleştirilememiştir.

Çalışmaya dahil edilen kefir örneklerinde *Lactobacillus* ve *Lactococcus* cinslerinin tespit edilmesi ancak alt suşların tespit edilmemesi, çevre koşullarına dayanıklılık farkının yorumlanması açısından bir sınırlama oluşturmaktadır.

7 KAYNAKLAR

1. Pulido VM, Castro R, Durán-Guerrero E, Lasanta C, Díaz AB. Alternative beverages for probiotic foods. *Eur Food Res Technol.* 2021;(November):1-14. doi: 10.1007/s00217-021-03904-w.
2. Sensoy I. A review on the food digestion in the digestive tract and the used in vitro models. *Curr Res Food Sci.* 2021;4:308-319. doi: 10.1016/j.crfs.2021.04.00.
3. Peate I. The gastrointestinal system. *Br J Healthc Assist.* 2021;15(3):132-137. doi: 10.12968/bjha.2021.15.3.132.
4. Özden A. Probiyotik: Sağlıklı Yaşam İçin Yararlı Dost Bakteriler. *Güncel Gastroentoloji.* 2013;17(1):22-38.
5. Güven A, Gülmez M. Fonksiyonel Gıdalar ve Sağlıkla İlişkisi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg.* 2006;12(1):91-6.
6. Nagpal R, Yadav H, Kumar M, Jain S, Yamashiro Y, Marotta F. Probiotics, Prebiotics and Synbiotics. In: Ötleş S, editor. *Probiotics and Prebiotics in Food, Nutrition and Health.* CRC press Taylor & Francis Group; 2013. p. 1-25.
7. Baş M. Yaşam Dedğin 9 Metre. 1. baskı. İstanbul: Destek Yayınları Lts. Şti.; 2019. 559 p.
8. Ma C, Zhang C, Chen D, Jiang S, Shen S, Huo D, et al. Probiotic consumption influences universal adaptive mutations in indigenous human and mouse gut microbiota. *Commun Biol.* 2021;4(1198):1-12.
9. Pupa P, Apiwatsiri P, Sirichokchatchawan W, Pirarat N, Muangsins N, Shah AA, et al. The efficacy of three double-microencapsulation methods for preservation of probiotic bacteria. *Sci Rep.* 2021;11(1):1-9.
10. Mazzantini D, Celandroni F, Calvigioni M, Panattoni A, Labella R, Ghelardi E. Microbiological Quality and Resistance to an Artificial Gut Environment of Two Probiotic Formulations. *Foods.* 2021;10:1-13.
11. Mainville I, Arcand Y, Farnworth ER. A dynamic model that simulates the human upper gastrointestinal tract for the study of probiotics. *Int J Food Microbiol.* 2005;99:287-96.
12. Nogay NH. Kefir beverage and its effects on health. *Milk-Based Beverages Vol 9 Sci Beverages.* 2019;273-96.
13. Van Wyk J. Kefir: The champagne of fermented beverages. 1st edition. Holban AM, Grumezescu A, editors. *Fermented Beverages: Volume 5. The Science of Beverages.* Elsevier Inc.; 2019. 473-527 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815271-3.00012-9>
14. Farnworth ER. Kefir-a complex probiotic. *Food Sci Technol Bull Funct Foods.* 2005;2(1):1-17.
15. Kaur P, Ghoshal G, Banerjee UC. Traditional bio-preservation in beverages: Fermented beverages. In: Holban AM, Grumezescu A, editors. *Preservatives and Preservation Approaches in Beverages, Volume 15: The Science of Beverage.* 1st edition. Elsevier Inc.; 2019. p. 69-113.

16. Karabiyikli Ş, Daştan S. Geleneksel ve fonksiyonel bir gıda olan kefirin mikrobiyolojik profili. J Agric Fac Gaziosmanpasa Univ. 2016;33(1):75–83.
17. Li C, Yu W, Wu P, Chen XD. Current in vitro digestion systems for understanding food digestion in human upper gastrointestinal tract. Trends Food Sci Technol. 2020;96:114–26. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.015>
18. Brodkorb A, Egger L, Alminger M, Alvito P, Assunção R, Ballance S, et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. Nat Protoc. 2019;14(4):991–1014.
19. Çomak Göçer EM, Ergin F, Küçükçetin A. Sindirim Sistemi Modellerinde Probiyotik Mikroorganizmaların Canlılığı. Akad Gıda. 2016;14(2):158–65.
20. Lucas-González R, Viuda-Martos M, Pérez-Alvarez JA, Fernández-López J. *In vitro* digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. Food Res Int. 2018;107(December 2017):423–36.
21. Minekus M, Alminger M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C, et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus. Food Funct. 2014;5:1113–24.
22. Farnworth ER. The beneficial health effects of fermented foods – potential probiotics around the world. J Nutraceuticals, Funct Med Foods. 2004;4(3/4):93–117.
23. Evren M, Apan M, Tutkun E, Evren S. Geleneksel Fermente Gıdalarda Bulunan Laktik Asit Bakterileri. Elektronik Mikrobiyoloji Derg. 2011;09(1):11–7.
24. Coşkun F. A Traditional Turkish Fermented Non-Alcoholic Beverage, “Shalgam.” Beverages. 2017;3(4):49.
25. Demir MK. Geleneksel Tarhana Üretiminde Tam Buğday Unu Kullanımı. Akad Gıda. 2018;16(2):148–55.
26. Rezac S, Kok CR, Heermann M, Hutkins R. Fermented foods as a dietary source of live organisms. Front Microbiol. 2018;9(AUG).
27. Kocaadam B, Acar N. Ekmek, Bira, Şarap ve Yoğurdun Orijinleri ve Tarihsel Süreçleri. Beslenme ve Diyet Derg. 2016;44(3):272–9.
28. Ray RC, Joshi V. Fermented Foods: Past, Present and Future. In: Ray RC, Montet D, editors. Microorganisms and fermentation of traditional foods. CRC pres Taylor & Francis Group; 2015. p. 1689–99.
29. Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, Foligné B, et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. Curr Opin Biotechnol. 2017;44:94–102.
30. Liu S, Han Y, Zhou Z jiang. Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods. Food Res Int. 2011;44(3):643–51.
31. Sengun IY, Karabiyikli S. Importance of acetic acid bacteria in food industry. Food Control. 2011;22(5):647–56.
32. Slashinski MJ, McCurdy SA, Achenbaum LS, Whitney SN, McGuire AL. Snake-oil, quack medicine, and industrially cultured organisms: Biovalue and the commercialization of human microbiome research. BMC Med Ethics. 2012;13(1):1.

33. Rakhmanova A, Khan ZA, Shah K. A mini review fermentation and preservation: role of Lactic Acid Bacteria. *MOJ Food Process Technol.* 2018;6(5):414–7.
34. TKG. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2009/25). ANKARA; 2009.
35. Şanlıer N, Gökçen BB, Sezgin AC. Health benefits of fermented foods. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2019;59(3):506–27.
36. Farnworth ER. Kefir: From Folklore to Regulatory Approval. *J Nutraceuticals, Funct Med Foods.* 1999;1(4):57–68.
37. Yörükoğlu T, Dayısoylu KS. Yöresel Maraş Tarhanasının Fonksiyonel ve Kimyasal Bazı Özellikleri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Derg.* 2016;47(1):53–63.
38. Küçüköz K, Trzaskowska M. Nondairy Probiotic Products: Functional Foods That Require More Attention. *Nutrients.* 2022;14(4).
39. Ozcan T, Yılmaz-Ersan L, Akpınar-Bayazit A, Delikanlı-Kiyak B, Keser G, Ciniviz M, et al. Probiotic Fermentation and Organic Acid Profile in Milk Based Lactic Beverages Containing Potential Prebiotic Apple Constituents. *Tarım Bilim Derg.* 2023;29(2):734–42.
40. Merenstein D, Pot B, Leyer G, Ouwehand AC, Preidis GA, Elkins CA, et al. Emerging issues in probiotic safety: 2023 perspectives. *Gut Microbes.* 2023;15(1):1–22.
41. Barnett JA. A history of research on yeasts 2: Louis Pasteur and his contemporaries, 1850-1880. *Yeast.* 2000;16(8):755–71.
42. Grigoroff S. Study on edible fermented milk: Kissélo-mléko in Bulgaria. *Revue Médicale de la Suisse Romande. Genève: Libraires- Éditeurs. Librairie de L'Université.;* 1905.
43. Metchnikoff E. Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. The prolongation of life; optimistic studies. Mitchell PC, editor. New York & London: G.P. Putnam's Sons.; 1908. 151–161 p.
44. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. *Science (80-).* 1965;147:747–8.
45. Zawistowska-Rojek A, Tyski S. Are probiotic really safe for humans? *Polish J Microbiol.* 2018;67(3):251–8.
46. Jäger R, Mohr AE, Pugh JN. Recent advances in clinical probiotic research for sport. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2020;23(6):428–36.
47. Fusco V, Fanelli F, Chieffi D. Authenticity of probiotic foods and dietary supplements: A pivotal issue to address. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2022;62(25):6854–71.
48. Zhang Y, Ding Y, Guo Q. Probiotic Species in the Management of Periodontal Diseases: An Overview. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12(March):1–15.
49. Mackowiak PA. Recycling Metchnikoff: Probiotics, the intestinal microbiome and the quest for long life. *Front Public Heal.* 2013;1(NOV):1–3.
50. Perricone M, Bevilacqua A, Altieri C, Sinigaglia M, Corbo MR. Challenges for the production of probiotic fruit juices. *Beverages.* 2015;1(2):95–103.

51. Nielsen B, Gürakan GC, Ünlü G. Kefir: A Multifaceted Fermented Dairy Product. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2014;6(3–4):123–35.
52. Sarkar S. Potential of kefir as a dietetic beverage - A review. *Br Food J*. 2007;109(4):280–90.
53. Mitra S, C Ghosh B. Kefir—a fermented milk product beneficial for gastrointestinal health. *Indian J Dairy Sci*. 2021;74(6):469–78.
54. Rattray FP, O’Connell MJ. Microbial Aspects of Kefir Grains and Kefir. *Encycl Dairy Sci*. 2011;518–24.
55. Altay F, Karbancioglu-Güler F, Daskaya-Dikmen C, Heperkan D. A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. *Int J Food Microbiol*. 2013;167(1):44–56.
56. Akdan C, Kınık Ö, İçier F. Manda Sütü ve Diğer Süt Karışımlarıyla Üretilen Kefirlerin Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Derg*. 2020;Özel sayı:39–50.
57. Irigoyen A, Arana I, Castiella M, Torre P, Ibáñez FC. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chem*. 2005;90(4):613–20.
58. TKG. Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2022/44). 2022.
59. Saygili D, Döner D, İçier F, Karagözlü C. Rheological properties and microbiological characteristics of kefir produced from different milk types. *Food Sci Technol*. 2022;42:3–8.
60. Salari A, Ghodrat S, Gheflati A, Jarahi L, Hashemi M, Afshari A. Effect of kefir beverage consumption on glycemic control: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Complement Ther Clin Pract*. 2021;44(July).
61. Farnworth ER, Mainville I. Kefir—A Fermented Milk Product. In: Farnworth ER, editor. *Handbook of Fermented Functional Foods*. Second Edi. CRC Press; 2008.
62. Kesenkaş H, Gürsoy O, Özbaş H. Kefir. *Fermented Foods Heal Dis Prev*. 2017;339–61.
63. Dimitreli G, Antoniou KD. Effect of incubation temperature and caseinates on the rheological behaviour of Kefir. *Procedia Food Sci*. 2011;1:583–8.
64. Suriasih K, Aryanta W, Mahardika G. Microbiological and chemical properties of Kefir made of Bali cattle milk. *Food Sci Qual Manag*. 2012;6:12–23.
65. Yalçın NF, Işık MK. Kefir; Ürün Özellikleri ve İnsan Sağlığına Etkisi. *Adıyaman Üniversitesi Sağlık Bilim Derg*. 2017;3(1):439–52.
66. Yirmibeşoğlu SSS, Tefon Öztürk BE. Ticari ve Lokal Kefir Danelerinden Elde Edilen Kefirlerin Biyoaktivitelerinin Karşılaştırılması. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilim Enstitüsü Derg*. 2020;10(2):769–77.
67. Arslan S. A review: Chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir. *CYTA - J Food*. 2015;13(3):340–5.
68. Ötles S, Çağındı O. Kefir: A probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. Vol. 2, *Pakistan Journal of Nutrition*. 2003. p. 54–9.
69. Kabak B, Dobson ADW. An introduction to the traditional fermented foods and beverages of Turkey. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2011;51(3):248–60.

70. Alves E, Ntungwe EN, Gregório J, Rodrigues LM, Pereira-Leite C, Caleja C, et al. Characterization of kefir produced in household conditions: Physicochemical and nutritional profile, and storage stability. *Foods*. 2021;10(5):1–16.
71. Pihlanto A. Lactic Fermentation and Bioactive Peptides. In: Kongo JM, editor. *Lactic Acid Bacteria - R&D for Food, Health and Livestock Purposes*. InTech; 2013. p. 309–32.
72. Marquina D, Santos A, Corpas I, Muñoz J, Zazo J, Peinado JM. Dietary influence of kefir on microbial activities in the mouse bowel. *Lett Appl Microbiol*. 2002;35(2):136–40.
73. Dahiya D, Nigam PS. Therapeutic and Dietary Support for Gastrointestinal Tract Using Kefir as a Nutraceutical Beverage: Dairy-Milk-Based or Plant-Sourced Kefir Probiotic Products for Vegan and Lactose-Intolerant Populations. *Fermentation*. 2023;9(4).
74. Zhu R, Chen K, Zheng YY, Zhang HW, Wang JS, Xia YJ, et al. Meta-analysis of the efficacy of probiotics in *Helicobacter pylori* eradication therapy. *World J Gastroenterol*. 2014;20(47):18013–21.
75. Murashova AO, Novakshonov AA, Uchaikin UF. The effectiveness of using bifidokefir for the treatment of severe intestinal infections and the connection of dysbiosis in children. *J Dairy Sci*. 1997;59:42.
76. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: The biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev*. 2011;91(1):151–75.
77. Pražnikar ZJ, Kenig S, Vardjan T, Bizjak MČ, Petelin A. Effects of kefir or milk supplementation on zonulin in overweight subjects. *J Dairy Sci*. 2020;103(5):3961–70.
78. Walsh LH, Walsh AM, Garcia-Perez I, Crispie F, Costabile A, Ellis R, et al. Comparison of the relative impacts of acute consumption of an inulin-enriched diet, milk kefir or a commercial probiotic product on the human gut microbiome and metabolome. *npj Sci Food*. 2023;7(1):1–8.
79. Şeker A. Kefir İçeceğinin Biyoaktif Bileşenlerinin *İn Vitro* Gastrointestinal Simülasyon ile Belirlenmesi. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Denizli, 2017. (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ö Aytekin)
80. Garrote GL, Abraham AG, De Antoni GL. Characteristics of kefir prepared with different grain: milk ratios. *J Dairy Res*. 1998;65:149–154.
81. Kızıl M. Besin Tüketimi: Besin Öğelerinin Sindirimi, Emilimi, Taşınması ve Atımı. In: Akbulut G, editor. *Krause “Besin ve Beslenme Bakım Süreci.”* Ankara Nobel Tıp Kitapevi Ltd. Şti.; 2019. p. 1152.
82. Saka M, Köşeler E, Metin S. Gastrointestinal sistem Hastalıkları ve Beslenme Tedavisi. In: Tüfekçi Alphan EM, editor. *Hastalıklarda Beslenme Tedavisi*. 2. baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayıncılık Ltd. Şti; 2016. p. 541–638.
83. Akbulut G. Gastrointestinal Sistem Hastalıklarında Tıbbi Beslenme Tedavi. 1. baskı. Ankara: Ankara Nobel Tıp Kitapevi Ltd. Şti.; 2017. 353 p.
84. Nazlıkul H. Duygusal Beyin: Bağırsak. 31. baskı. İstanbul: Destek Yayınları Ltd. Şti.; 2020. 231 p.

85. Çiftçi S. Gastrointestinal Sistem Hastalıkları. In: Köse G, editor. Beslenme , Diyet ve Hastalık. 1. baskı. Konya: Eğitim Yayınevi Ltd. Şti.; 2022. p. 73–114.
86. Akyüz F, Demir K. Gastrointestinal Fizyopatoloji. Klin Gelişim. 2002;22:77–80.
87. Chang EB, Leung PS. Regulation of Gastrointestinal Functions. In: Leung PS, editor. The Gastrointestinal System “Gastrointestinal, Nutritional and Hepatobiliary Physiology”. New York London: Springer Dordrecht Heidelberg; 2014. p. 3–34. 051ADA3C0741
88. Habib S, Swaby AM, Gaisawat MB, Kubow S, Agellon LB. A novel, scalable, and modular bioreactor design for dynamic simulation of the digestive tract. Biotechnol Bioeng. 2021;118(11):4338–46.
89. Singh V, Son HW, Lee GD, Lee S, Unno T, Shin JH. Role, relevance, and possibilities of *in vitro* fermentation models in human dietary, and gut-microbial studies. Biotechnol Bioeng. 2022;119(11):3044–61.
90. Havenaar R, Anneveld B, Hanff LM, De Wildt SN, De Koning BAE, Mooij MG, et al. *In vitro* gastrointestinal model (TIM) with predictive power, even for infants and children? Int J Pharm. 2013;457(1):327–32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.07.053>
91. Uriot O, Galia W, Awussi AA, Perrin C, Denis S, Chalancon S, et al. Use of the dynamic gastrointestinal model TIM to explore the survival of the yogurt bacterium *Streptococcus thermophilus* and the metabolic activities induced in the simulated human gut. Food Microbiol. 2016;53:18–29.
92. Marzorati M, Van den Abbeele P, Bubeck S, Bayne T, Krishnan K, Young A. Treatment with a spore-based probiotic containing five strains of *Bacillus* induced changes in the metabolic activity and community composition of the gut microbiota in a SHIME® model of the human gastrointestinal system. Food Res Int. 2021;149:110676. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110676>
93. Egger L, Ménard O, Baumann C, Duerr D, Schlegel P, Stoll P, et al. Digestion of milk proteins: Comparing static and dynamic *in vitro* digestion systems with *in vivo* data. Food Res Int. 2019;118:32–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.049>
94. Barroso E, Cueva C, Peláez C, Martínez-Cuesta MC, Requena T. Development of human colonic microbiota in the computer-controlled dynamic SIMulator of the GastroIntestinal tract SIMGI. Lwt. 2015;61(2):283–9.
95. Cueva C, Gil-Sánchez I, Tamargo A, Miralles B, Crespo J, Bartolomé B, et al. Gastrointestinal digestion of food-use silver nanoparticles in the dynamic SIMulator of the GastroIntestinal tract (simgi®). Impact on human gut microbiota. Food Chem Toxicol. 2019;132(July):110657. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110657>
96. AOAC. Association of Analytical Chemists. Solids (Total) in milk. Official Methods of Analysis, No.990.20. Official Methods of Analysis of Official Chemists. 17th edition. Horwitz W, editor. Washington DC. USA.: AOAC Intl; 2000.
97. AOAC. Association of Official Analytical Chemists International Official Methods of Analysis. 16th edition. Horwitz W, editor. Washington DC. USA.: AOAC int; 1997.

98. AOAC. Association of Analytical Chemists. Acidity, titrimetric methods. Official Methods of Analysis. No.947.05. Official Methods of Analysis of Official Chemists. 17th edition. Horwitz W, editor. Washington DC. USA.: AOAC intl; 2000.
99. AOAC. Association of Analytical Chemists. Fat Content of Raw and Pasteurized Whole Milk. Methods of Analysis. No. 2000.18. Official Methods of Analysis of Official Chemists. 17th edition. Horwitz W, editor. Washington DC. USA.: AOAC intl; 2000.
100. AOAC. Association of Analytical Chemists. Nitrogen (Total) in Milk. Kjeldahl Method. Official Methods of Analysis. No. 991.20. Official Methods of Analysis of Official Chemists. 17th edition. Horwitz W, editor. Washington DC. USA.: AOAC Intl; 2000.
101. Del Campo R, Bravo D, Cantón R, Ruiz-Garbajosa P, García-Albiach R, Montesi-Libois A, et al. Scarce evidence of yogurt lactic acid bacteria in human feces after daily yogurt consumption by healthy volunteers. Appl Environ Microbiol. 2005;71(1):547–9.
102. Tabasco R, Paarup T, Janer C, Peláez C, Requena T. Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* subsp. *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. Int Dairy J. 2007;17(9):1107–14.
103. ISO. ISO 15214:1998 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria — Colony-count technique at 30 °C. 2021.
104. Güneş Bayır A, Bilgin MG. The Effect of Cinnamon on Microbiological, Chemical and Sensory Analyses of Probiotic Yogurt. Bezmialem Sci. 2019;7(4):311–6.
105. Hayatoğlu F. Probiyotik Bakteri İlavesi ile Üretilen Ayrarların Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar, 2021. (Danışman: Dr. Öğr. Üyesi G Akarca)
106. Onaran B, Çufaoğlu G. Comparison of microbial population of household and commercial kefir in Ankara , Turkey. J Turkish Vet Med Soc. 2017;88(1):52–8.
107. Sayın Yatık E. Kefir Fermantasyonu Sırasında Mikrobiyel ve Kimyasal Değişimin İzlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek lisans Tezi, Isparta, 2021. (Danışman: Prof. Dr. A G Karahan Çakmakçı)
108. Kırmaz C, Kınık Ö, İçier F. Determination of rheological properties of kefir produced with buffalo milk and other milk mixtures. J Agric Fac Ege Univ. 2023;60(1):37–51.
109. Ateş HG. Aydın ilinde Tüketime Sunulan Ticari Kefirlerin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Kalitelerinin Belirlenmesi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi (Veteriner), Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2021. (Danışman: Dr. Öğr. Üyesi D Beyaz)
110. Öksüztepe G, Demir P, Karatepe P, Alan S, Akgöl M. Ticari kefirlerin bazı kalite parametrelerinin incelenmesi. Vet J Mehmet Akif Ersoy Univ. 2020;5(2):40–7.

111. Çirpici BB, Çetin B. Erzurum Piyasasında Tüketime Sunulan Ticari Kefirlerin Mikrobiyolojik Kalitesinin Araştırılması Investigation of Microbiological Quality of Commercial Kefirs Consumed in Erzurum Market. 2023;2(2):34–7.
112. Ünal FN, Kalyas A, Gürbüz Z, Şengül M, Ürkek B. Ticari Kefirlerin Bazı Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi. Gıda. 2020;45(3):555–63.
113. Gursoy O, Kocatürk K, Dal HÖG, Yakalı HN, Yılmaz Y. Physicochemical and Rheological Properties of Commercial Kefir Drinks. Akad Gıda. 2020;18(4):375–81.
114. Güzeler N, Ari E, Konuray G, Özbek C. Physicochemical and Microbiological Properties of Kefir , Kefir Yogurt and Chickpea Yogurt. Curr Res Nutr Food Sci. 2017;13(November):189–92.
115. Kezer G. Geleneksel Yöntemle Üretilen Kefir İle Ticari Kefirlerin Bazı Comparison of Some Microbiological Properties of Traditional Kefir and Commercial Kefir. 2022;2:101–9.
116. Ufakşeker K. Geleneksel ve Endüstriyel Olarak Üretilen Kefirin Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, 2019. (Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yekta Gezginç).
117. Mutluer Yalçın M. Havuç Lifi ile Zenginleştirilmiş Kefirin Bazı Özellikleri. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, 2021 (Danışman: Prof. Dr. M B Akın)
118. Bengi S. Farklı Oranlarda Propolis İlave Edilmiş Kefirlerin Bazı Fizikokimyasal, Reolojik, Antioksidan, Mikrobiyolojik ve Duyusal Özellikleri. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Burdur, 2022. (Danışman: Prof. Dr. O Gürsoy)
119. Üstün-Aytekin Ö, Şeker A, Arısoy S. The effect of *in vitro* gastrointestinal simulation on bioactivities of kefir. Int J Food Sci Technol. 2020;55(1):283–92.
120. Plessas S, Nouska C, Mantzourani I, Kourkoutas Y, Alexopoulos A, Bezirtzoglou E. Microbiological exploration of different types of Kefir grains. Fermentation. 2017;3(1):1–10.
121. Çıray Z. Piyasada satılan ticari kefirlerin mikrobiyal kalitesinin değerlendirilmesi. İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Yüksek lisans Tezi, İstanbul, 2017. (Danışman: Yrd. Doç. Dr. S Özmen Toğay)
122. Vamanu E. Effect of gastric and small intestinal digestion on lactic acid bacteria activity in a GIS1 simulator. Saudi J Biol Sci. 2017;24(7):1453–7.
123. Marteau P, Minekus M, Havenaar R, Huis In't Veld JHJ. Survival of Lactic Acid Bacteria in a Dynamic Model of the Stomach and Small Intestine: Validation and the Effects of Bile. J Dairy Sci. 1997;80(6):1031–7.
124. Sharp MD, McMahon DJ, Broadbent JR. Comparative evaluation of yogurt and low-fat cheddar cheese as delivery media for probiotic *Lactobacillus casei*. J Food Sci. 2008;73(7):375–7.

125. Çomak Göçer EM, Ergin F, Özen Küçükçetin I, Küçükçetin A. In vitro gastrointestinal resistance of *Lactobacillus acidophilus* in some dairy products. *Brazilian J Microbiol.* 2021;52(4):2319–34.
126. Vinderola CG, Reinheimer JA. Lactic acid starter and probiotic bacteria: A comparative “*in vitro*” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Res Int.* 2003;36(9–10):895–904.
127. Lo Curto A, Pitino I, Mandalari G, Dainty JR, Faulks RM, John Wickham MS. Survival of probiotic lactobacilli in the upper gastrointestinal tract using an *in vitro* gastric model of digestion. *Food Microbiol.* 2011;28(7):1359–66.
128. Pitino I, Randazzo CL, Mandalari G, Lo Curto A, Faulks RM, Le Marc Y, et al. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* strains in the upper gastrointestinal tract. *Food Microbiol.* 2010;27(8):1121–7.
129. Klindt-Toldam S, Larsen SK, Saaby L, Olsen LR, Svenstrup G, Müllertz A, et al. Survival of *Lactobacillus acidophilus* NCFM® and *Bifidobacterium lactis* HN019 encapsulated in chocolate during *in vitro* simulated passage of the upper gastrointestinal tract. *Lwt.* 2016;74:404–10.
130. Jensen H, Grimmer S, Naterstad K, Axelsson L. In vitro testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol.* 2012;153(1–2):216–22.

8 EKLER

EK 1. Laboratuvar Kullanımı İzin Belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 15.12.2021-E.53104



T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Fakültesi Dekanlığı

Sayı :E-20340772-200-53104
Konu : Akademik Personel ve Akademik
Kariyer İşleri

DAĞITIM YERLERİNE

İlgi : 10.12.2021 tarihli ve 96006437-200-E.52685 sayılı yazı.

Bölümümüz Öğr.Grv.Merve İNCE PALAMUTOĞLU'nun doktora tezi kapsamında yürütülecek çalışmaların Beslenme ve Diyetetik Bölümü Besin Kimyası laboratuvarında yapılması Dekanlığımızca uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Tolga ERTEKİN
Dekan V.

Dağıtım:
Gereği:
Beslenme ve Diyetetik Bölüm Başkanlığına

Bilgi:
Sayın Öğr.Gör. Merve İNCE PALAMUTOĞLU

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu : BS5BR6VZ24 Pin Kodu : 31262

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/afsu-dhy5>

Adres : Sağlık Bilimleri Fakültesi Zaferan Kalliyesi Dörtüöl Mah. 2078 Sok. No.3

Bilgi için : Samiye Selcen Çelik

AFYONKARAHİSAR

Unvanı : Bilgisayar İşleneni

Telefon : 0 272 246 28 34 Faks:0 272 246 28 69

Tel No : 02722462834

e-Posta : afsayo@afsu.edu.tr Web : www.afsu.edu.tr

Kayıp Adresi : afsu@hs01.kep.tr



9 ÖZGEÇMİŞ







