



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



KEFİRİN BAZI MİKROBİYOLOJİK VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ayşe DİNÇ

**BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. U. Tansel ŞİRELİ**

2008- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KEFİRİN BAZI MİKROBİYOLOJİK VE KİMYASAL
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Ayşe DİNÇ

**BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. U. Tansel ŞİRELİ**

2008- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Yüksek Lisans Programı

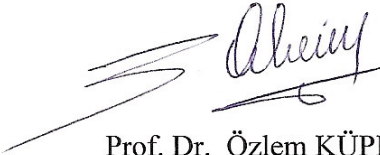
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 02. 07. 2008

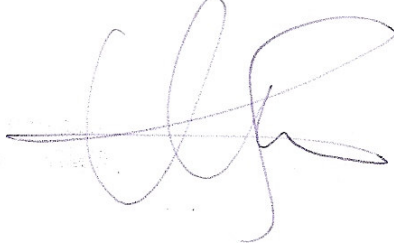
Prof. Dr. İrfan EROL
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Sadi AKGÜN
Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi



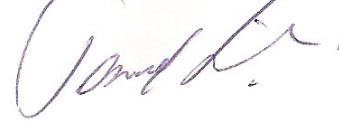
Prof. Dr. Özlem KÜPLÜLÜ
Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi



Prof. Dr. Asuman GÜRSEL
Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi



Prof. Dr. U. Tansel ŞİRELİ
Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi



İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Tarihçe	2
1.2. Kefir Tanesi	2
1.3. Kefirin Mikrobiyal Florası	3
1.4. Kefirin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	10
1.5. Kefir Üretimi	16
1.5.1. Geleneksel Kefir Üretimi	17
1.5.2. Endüstriyel Kefir Üretimi	18
1.6. Kefirin Beslenme ve Sağlık Açısından Önemi	20
1.7. Kefirin Muhafazası	24
2. GEREÇ VE YÖNTEM	27
2.1. Gereç	27
2.2. Yöntem	27
2.2.1. Örneklerin Alınması	27
2.2.2. Mikrobiyolojik Analizler	27
2.2.2.1. Aerob mezofil genel canlı (Amgc) İzolasyonu	27
2.2.2.2. Laktobasillerin İzolasyonu	28
2.2.2.3. Enterokokların İzolasyonu	28
2.2.2.4. Enterobakterilerin İzolasyonu	28
2.2.2.5. Koliform Bakteriler, Fekal Koliformlar ve <i>Escherichia coli</i> İzolasyonu	28
2.2.2.6. Maya ve Küf İzolasyonu	29
2.2.3. Kimyasal Analizler	33

2.2.3.1. Protein Miktarının Belirlenmesi	33
2.2.3.2. Titrasyon Asitliği Ölçümü	34
2.2.3.3. Yağ Miktarının Belirlenmesi	34
2.2.3.4. Kuru Madde Miktarının Belirlenmesi	34
2.2.4. pH Ölçümü	35
2.2.5. İstatistiksel Analizler	36
3. BULGULAR	37
4. TARTIŞMA	44
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	50
ÖZET	51
SUMMARY	52
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	59

ÖNSÖZ

Gelecek yüzyılın insan beslenmesine ne getireceği bilinmez ama günümüzde gıdaların besleyici değerlerinden çok “sağlıklı ve güvenilir” gıdanın temini önem kazanmıştır. Bu bağlamda dünyada gıda üretim ve tüketimi yıllar içerisinde farklı bir boyut kazanmıştır. Bugün sağlıklı toplumların oluşması için temiz bir çevre ile birlikte sağlıklı, yeterli ve dengeli beslenme alışkanlıklarına sahip bilinçli bireylerin olması gerekmektedir. Sağlıklı bir yaşam için de vazgeçilmez unsurlardan biri hayvansal gıdalardır. Bu nedenle de bireylerin gereksinimlerini karşılayacak düzeylerdeki hayvansal besin öğelerini düzenli olarak almaları gerekmektedir. Süt ve süt ürünleri insanoğlunun doğumdan itibaren yaşamının her döneminde besleyici bir gıda maddesi olarak yer almıştır. Süt bununla birlikte çabuk bozulabilen ve muhafazası zor bir gıda olması nedeniyle geçen zaman içerisinde muhafaza süresi daha uzun olan birçok ürün çeşidine dönüştürülmüştür. Bu şekilde elde edilen fermente süt ürünleri; besleyici değeri yanında sindirilebilirliğinin yüksek oluşu, içerdiği yararlı mikroorganizmalar tarafından oluşturulan bileşikler, içerdikleri birçok esansiyel maddeler, mineraller ve vitaminler ile sağlık üzerine olumlu etkileri bulunmakla birlikte, doğal barsak florasının korunmasına da yardımcı olmaktadır. Bu ürünler içerisinde bazıları vardır ki (yoğurt, kıymız, kefir gibi), ülkelerin tarihsel gelişiminde geleneksel özelliklerini koruyarak nesiller boyu üretimi yapılmıştır.

Bu ürünlerden biri olan kefir uzun yıllardan beri tüketilmekle birlikte, özellikle son yıllarda sağlığa yararlı etkilerinin belirlenmesi ile tüketimi artan probiyotik bir fermente süt ürünüdür. Kefir içerdiği besin öğeleri yönünden süte benzer özellikler göstermesinin yanı sıra, serinletici ve ferahlatıcı tadı nedeniyle de kolaylıkla tüketilebilen bir gıdadır. Bugün klasik kefir üretiminin dışında endüstriyel üretimde ürün çeşitliliği sağlanarak, meyveli çeşitleri ile çocuklara, diyet (light) formu ile de yetişkinlere yeni bir lezzet olarak ülkemizde tüketime sunulmaktadır. Tüketiminin her geçen gün yaygınlaşması sonucu artan ihtiyaca cevap verebilmek için günümüzde kefirin endüstriyel üretimi hız kazanmıştır. Üretimdeki artışa paralel olarak da üretilen kefirin kalite güvenliği ve tüketiciye sağlıklı bir şekilde ulaşması halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından büyük önem taşımaktadır.

Kefir uzun yıllardan beri bilinen ve tüketilen bir gıda olmakla birlikte, konu ile ilgili çalışmalara yeni ağırlık vermeye başlanmıştır. Bu nedenle de literatür taramalarında çok fazla çalışmaya rastlanmadığından bu çalışmanın bilgi kaynağı oluşturması düşünülerek planlanmış ve Ankara piyasasında tüketime hazır olarak satışa sunulan kefirlerin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Tez çalışmamın seçilmesi, yürütülmesi ve lisansüstü öğrenimim süresince ilgi ve yardımlarını esirgemeyen sayın danışman hocam Prof. Dr. U. Tansel ŞİRELİ'ye, başta Anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. İrfan EROL olmak üzere, değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Sadi AKGÜN'e, Prof. Dr. T. Haluk ÇELİK'e, Prof. Dr. Belgin SARİMEHMETOĞLU'na, Prof. Dr. Özlem KÜPLÜLÜ'ye ve Prof. Dr. Haydar

ÖZDEMİR'e, çalışmalarım esnasında yardımını esirgemeyen araştırma görevlisi arkadaşlarım, Anabilim dalı personeli ve bölümde lisansüstü öğrenim gören değerli meslektaşım Dyt. H. İbrahim KOÇ'a ve uzmanlık eğitimimin her aşamasında maddi ve manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, ilgi ve desteklerini hep yanımda hissettiğim çok değerli babam Ahmet DİNÇ, annem Sebile DİNÇ ile biricik kardeşim Sibel DİNÇ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

Amgc	Aerob mezofil genel canlı
°C	Celcius (Santigrad derece)
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
GHP	Good Hygiene Practice
GMP	Good Manufacturing Practice
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
kob	Koloni oluşturan birim
µg	Mikrogram
MPa	Megapascal
MPN	Most Probable Number (En Muhtemel Sayı)
N	Normalite
n	Number (sayı)
TGK	Türk Gıda Kodeksi
UHT	Ultra High Temperature
WHO	World Health Organization

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Kefir tanesi.	3
Şekil 1.2.	Kefir tanesinin iç kısmından bir görüntü.	6
Şekil 1.3.	Kefir tanesinin orta kısmından bir görüntü.	6
Şekil 1.4.	Kefir tanesinin dış kısmından bir görüntü.	6
Şekil 1.5.	Geleneksel kefir üretim aşamaları.	17
Şekil 1.6.	Endüstriyel kefir üretim aşamaları.	19
Şekil 2.1.	MPN tekniği ile <i>E.coli</i> düzeyinin belirlenmesi.	30
Şekil 2.2.	Protein tayin cihazı (Leco FP-528).	33
Şekil 2.3.	Nem tayin cihazı (Sartorius MA 30).	35
Şekil 2.4.	pH metre (Beckman Zeromatic SS-3).	35
Şekil 3.1.	Ankara’da marketlerde satılan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin aerob mezofil genel canlı, laktobasil ve maya değerleri (\log_{10}).	39
Şekil 3.2.	Ankara’da marketlerde satılan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin bazı mikroorganizmalar yönünden kontaminasyon oranları (%).	41
Şekil 3.3.	Ankara’da marketlerde satılan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin kuru madde, yağ ve protein miktarları (%).	43

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Kefir tanesinden izole edilen bazı bakteriler.	4
Çizelge 1.2.	Kefir tanesinden izole edilen bazı mayalar.	5
Çizelge 1.3.	Kefir tanesi, kefir kültürü ve kefirdeki mikroorganizma düzeyleri (log kob/ml).	9
Çizelge 1.4.	Kefirin bazı kimyasal bileşenleri ve enerji değeri.	11
Çizelge 1.5.	Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde belirtilen kefirin bileşimi.	12
Çizelge 1.6.	Kefir üretiminde görülen hatalar.	25
Çizelge 1.7.	Kefirin puanlama tekniği.	26
Çizelge 2.1.	Mikroorganizmaların izolasyonunda kullanılan besi yerleri ve inkübasyon koşulları.	31
Çizelge 2.2.	Most Probable Number (MPN) tablosu, üçlü tüp yöntemine göre (1-0,1-0,01 g).	32
Çizelge 3.1.	Ankara'da marketlerde satılan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin aerob mezofil genel canlı, laktobasil ve maya değerleri (log ₁₀).	38
Çizelge 3.2.	Ankara'da marketlerde satılan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin bazı mikroorganizmalar yönünden kontaminasyon düzeyleri.	41
Çizelge 3.3.	Ankara'da marketlerde satılan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin kimyasal değerleri.	43

1.GİRİŞ

Kefir, orijinini Rusya'nın Kafkas dağlarından alan, kefir tanesi kullanılarak elde edilen ve az miktarda alkol içeren hafif gazlı fermente bir süt ürünüdür. Türkçede keyif veren, coşturan, mest eden anlamlarına gelen 'keyf' sözcüğünden geldiği düşünülen kefir; kephir, kiaphur, kefer, knapan, kepi ve kipi gibi birçok isimle de bilinmektedir (Koroleva, 1988a; Ötleş ve Çağındı, 2003). Kefir Rusya dışında İsveç, Norveç, Finlandiya, Almanya, Yunanistan, Avusturya, Brezilya, İsrail, Arjantin, Tayvan, Portekiz, Fransa ve Türkiye'de tüketilmekte olup, son zamanlarda Amerika ve Japonya'da da kefir tüketimi yaygınlaşmıştır (Thompson ve ark., 1990; Angulo ve ark., 1993; Kroger, 1993; Halle ve ark., 1994; Lin ve ark., 1999; Garrote ve ark., 2001; Santos ve ark., 2003).

Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği kefiri; laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve torula mayalarını içeren kefir tanelerinin sütü fermente etmesi ile elde edilen içilebilir kıvamdaki bir ürün olarak tanımlamaktadır (Anon, 2001b).

Kefiri diğer fermente süt ürünlerinden ayıran en önemli özellik; kefir tanesinde bulunan bakteri ve maya türlerinin simbiyotik aktivitesi sonucu bu üründe laktik asit ve alkol fermentasyonunun bir arada oluşmasıdır (Ünlütürk ve Turantaş, 1998; Yılmaz ve ark., 2006). Hem laktik asit bakterileri hem de mayaların fermentasyonu sonucu kefirde laktik asit, asetik asit, az miktarda karbondioksit (CO₂), etil alkol ve yoğurda kıyasla farklı organoleptik özellikleri olmasını sağlayan aromatik bileşikler ortaya çıkmaktadır (Saloff-Coste, 1996; Ötleş ve Çağındı, 2003). Koroleva (1988b), mayaların laktik asitin bir kısmını metabolize etmek suretiyle laktik asit bakterilerinin üremesini stimüle ettiğini belirtmektedir. Kefir; kefir tanesinde bulunan bakteriler ve mayalar ile birlikte bu mikroorganizmaların metabolitlerini de içeren doğal bir probiyotik olarak da kabul edilmektedir (Yüksekdağ ve ark.,2004).

Kefir yapımında genellikle inek, keçi ve koyun sütü kullanılmaktadır (Libudzisz ve Piatkiewicz, 1990; Ötleş ve Çağındı, 2003). Günümüzde kefir taneleri kullanılarak kefir üretilebildiği gibi, starter kültürler kullanılarak üretilen endüstriyel kefirler de piyasada tüketime hazır olarak satışa sunulmaktadır (Koroleva, 1988a; Karagözlü ve Kavas, 2000).

Türkiye’de ticari kefir tüketiminin her geçen gün yaygınlaşmasına bağlı olarak, halk sağlığı yönünden üretilen kefirlerin kalitesi ve güvenliği de önem kazanmıştır. Bu nedenle bu çalışmada; Ankara’da tüketime sunulan ticari kefirlerin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. Tarihçe

Fermente süt ürünleri içerisinde yer alan kefir, çok eski çağlardan bu yana Kafkasya’da üretilmekte olup, buradan dünyaya yayılmıştır. Farklı sütler kullanılarak yapılan bu ürünün Kafkasya’da Elburus dağları eteklerinde yapıldığı ve yapımının gizli tutulduğu; fakat Rusya’da yayınlanan ‘Kefir’ kitabının 1884 yılında Almancaya çevrilmesi ile buradan Avrupa’ya yayıldığı görüşü hakimdir. Kafkasya’da geleneksel kefir keçi tulumu veya sığır işkembesi içine konan sütün kefir taneleriyle birlikte fermentasyona bırakılması ile elde edilmiştir. Kefir yapımında kullanılan tulum yazın evin dışında, kışın ise içinde bırakılmıştır. Elde edilen kefir içilerek, tulumun içine tekrar süt ilave edilmesi yoluyla kefir üretimine devam edilmiştir (Anon, 2004).

1.2. Kefir Tanesi

Kefir taneleri 3–20 mm çapında, küçük karnabahar veya patlamış mısır görünümünde, yumuşak, jelatinimsi yapıda, beyaz veya sarımtırak renkte, düzensiz partiküllerdir (Libudzisz ve Piatkiewicz, 1990). Kefir taneleri bakteri ve mayalardan oluşmakta, bu mikroorganizmaların etrafını glukoz ve galaktozdan oluşan, soğuk suda yavaş, sıcak suda hızlı erime özelliği gösteren ve *Lactobacillus kefiranofaciens*

tarafından üretilen, polisakkarit bir yapı olan kefiran çevrelemektedir (Otsoa ve ark., 2006). Kefir tanesinde bakteri türleri olarak laktik asit bakterileri, leukonostoklar, asetik asit bakterileri, streptokoklar ve bunlara ilaveten mayalar bulunmaktadır (Marshall ve Cole, 1985; Yaygın ve Kılıç, 1991; Karagözlü ve Kavas, 2000). Kefir taneleri pasajlandıkça gelişip çoğalmakta ve özelliklerini bir sonraki jenerasyona aktarmaktadır (Libudzisz ve Piatkiewicz, 1990).



Şekil 1.1. Kefir tanesi (Ötleş ve Çağındı, 2003).

1.3. Kefirin Mikrobiyal Florası

Kefir tanesinin mikrobiyal bileşiminde; homofermentatif ve heterofermentatif laktobasil türleri, leukonostok, laktokok, streptokok ve asetobakter türleri ile birlikte Torula mayaları, Candida ve Saccharomyces türleri bulunmaktadır (Marshall ve Cole, 1985; Angulo ve ark., 1993; Anon 2001a; Farnworth, 2005;) (Çizelge 1.1., Çizelge 1.2.).

Çizelge 1.1. Kefir tanesinden izole edilen bazı bakteriler (Farnworth, 2005).

<i>Lactobacillus</i> türleri	
<i>Lactobacillus kefir</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>Lactobacillus kefirgranum</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lactobacillus parakefir</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus fructivorans</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus hilgardii</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus viridescens</i>
<i>Lactococcus</i> türleri	
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>
<i>Acetobacter</i> türleri	
<i>Acetobacter</i> spp.	<i>Enterococcus</i> türleri
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	<i>Enterococcus durans</i>
<i>Leuconostoc</i> türleri	
<i>Leuconostoc</i> spp.	Diğer bakteriler
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Bacillus</i> spp.
<i>Streptococcus</i> türleri	
<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
	<i>Micrococcus</i> spp.
	<i>Escherichia coli</i>

Kefir tanesinin yapısında bulunan mayaların farklı özellikler gösterdiği, mayaların bir kısmının laktozu fermente etme özelliğine sahipken, bir kısmının da laktozu fermente etmediği belirtilmektedir. Bununla birlikte kefirde bulunan maya türlerinin birçoğu galaktoz ve sitratı kullanabilmektedir (Wyder ve ark., 1997; Cheirsilp ve ark., 2003). Wyder (1998), kefir ile ilgili literatürlerden elde ettiği bilgilerde kefirde 23 farklı türde maya bulunabildiğini, en fazla izole edilen maya türlerinin *Kluyveromyces marxianus*, *Candida kefir* ve *Saccharomyces cerevisiae* olduğunu belirlemiştir. Angulo ve ark.(1993), kefir tanesinde bulunan mayaların CO₂ ve etanol üretmeleri ile fermentasyonda önemli rol oynadıklarını belirtmişlerdir.

Çizelge 1.2. Kefir tanesinden izole edilen bazı mayalar (Farnworth, 2005).

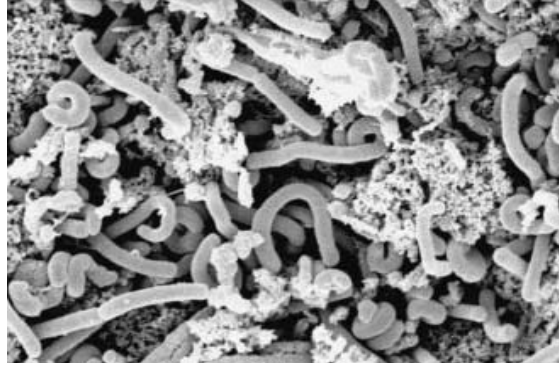
Mayalar	<i>Candida friedrichii</i>
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Candida pseudotropicalis</i>
<i>Saccharomyces spp.</i>	<i>Candida tenuis</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida inconspicua</i>
<i>Saccharomyces unisporus</i>	<i>Candida maris</i>
<i>Saccharomyces exiguus</i>	<i>Candida lambica</i>
<i>Saccharomyces turicensis</i>	<i>Candida tannotelerans</i>
<i>Saccharomyces dairensis</i>	<i>Candida valida</i>
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	<i>Candida kefir</i>
<i>Brettanomyces anomalus</i>	<i>Candida holmii</i>
<i>Issatchenkia occidentalis</i>	<i>Pichia fermentans</i>

Kefirin mikrobiyal florası; kefir tanesinin orijini, kefir tanesinde bulunan mikroorganizmaların düzeyi, mikroorganizma türlerinin birbirine oranı, üretimde uygulanan inkübasyon sıcaklığı, süresi ve kefir tanelerinin muhafaza süresi gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Ayrıca işletmenin hijyen ve sanitasyon uygulamaları da kefirin mikrobiyal florası üzerine önemli derecede etkilidir (Güzel-Seydim ve ark., 2005).

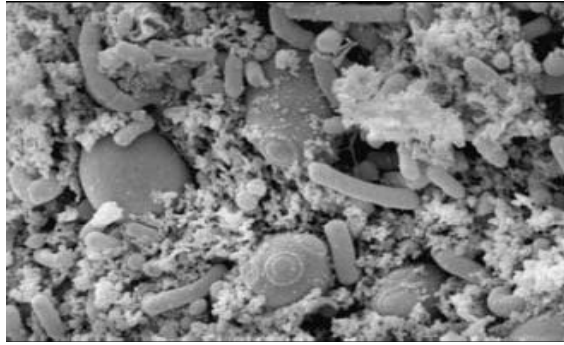
Kefir tanesinin mikroskopik incelemesinde limon şeklinde veya uzun ipliksi görünümde mayalar, koklar ve çubuk şeklinde laktobasiller bir arada görülmektedir. Koklar genellikle maya hücrelerinin yüzeyinde yer alırken, laktobasiller genel olarak maya hücrelerinin aralarına yerleşmiş durumdadır (Otsoa ve ark., 2006).

Güzel-Seydim ve ark. (2005)'nın kefir tanelerini elektron mikroskobu ile (Scanning Electron Microscopy) inceledikleri bir çalışmada (Şekil 1.2., Şekil 1.3, Şekil 1.4.) kefir tanesinin dış kısmında laktobasiller, mayalar ve fibrillar bir madde gözlerken, bu maddenin kefiran olabileceğini düşünmüşlerdir. Kefir tanesinin dış kısmıyla karşılaştırıldığında orta kısmında daha az miktarda maya bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar kefir tanesinin iç kısımlarında laktobasillerin bulunduğunu fakat mayaların olmadığını belirtmişlerdir. Bu durumun da mayaların

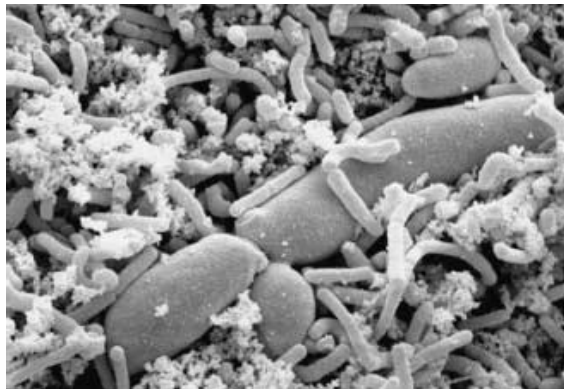
aerob olması nedeni ile daha çok kefir tanesinin dış yüzeyinde kolonize olmalarından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir.



Şekil 1.2. Kefir tanesinin iç kısmından bir görüntü (Güzel-Seydim ve ark., 2005).



Şekil 1.3. Kefir tanesinin orta kısmından bir görüntü (Güzel-Seydim ve ark., 2005).



Şekil 1.4. Kefir tanesinin dış kısmından bir görüntü (Güzel-Seydim ve ark., 2005).

İnek sütünden ticari starter kültür kullanılarak üretilen kefirde fermentasyon süresince oluşan mikrobiyal değişimleri incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada; araştırmacılar süte 0,8 g/l düzeyinde starter kültür ilave ederek, 20–23 °C’de fermentasyona bırakmışlardır. Fermentasyonun 2, 8, 24, 48, 96 ve 168. saatlerinde örnekler alınarak analiz edilmiştir. Başlangıçta 6,5 log kob/ml olan aerob mezofil genel canlı sayısı, fermentasyonun 24. saatinde yaklaşık 1,5 logaritmalık bir artış göstermiştir. İnkübasyonun 24. saatinde laktokoklar en üst seviyeye ulaşırken, 168. saatin sonunda tüm örneklerdeki laktokok düzeyinin saptama sınırının altına olduğu tespit edilmiştir. Leukonostok düzeyi ilk 48 saat içerisinde artış gösterirken daha sonraki saatlerde değişmemiştir. Laktobasil sayısı başlangıçta daha hızlı sonrasında yavaş olmak üzere sürekli bir artış eğilimi göstermiştir. Fermentasyonun ilk 8 saatinde maya miktarı <1 log kob/ml iken, 168. saatte yaklaşık 3 log kob/ml değerine ulaşmıştır. Yapılan çalışmada ilk 48 saat boyunca laktokokların baskın olduğu gözlenirken, 48. saatten sonra laktobasil türlerinin baskın olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan starter kültürde enterokok bulunmamasına rağmen, incelenen kefir örneklerinden enterokok izole edilmiştir. Araştırmacılar süte uygulanan ısı işlemin yüksek derecede (90 °C’de 15 dakika) yapılmış olması nedeniyle enterokok kaynağının paketlenme materyalinden kaynaklanabileceğini düşünmüşlerdir (Fontan ve ark., 2006).

Irigoyen ve ark.(2005)’nın kefirin soğuk muhafazası sırasında mikrobiyal bileşiminde ortaya çıkan değişiklikleri incelemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında; kefir örneklerini süte % 1 ve % 5 oranında kefir tanesi inoküle edilmesi yoluyla hazırlamışlardır. Mikrobiyal flora yönünden incelenecek olan kefir örnekleri inkübasyondan sonraki 24. saatte ve 5 ± 1 °C’deki soğuk muhafazanın 2, 7, 14, 21 ve 28. günlerinde analiz edilmiştir. Başlangıçta laktobasil ve laktokok seviyesi 10^8 kob/ml iken, soğuk muhafazanın 14. gününden itibaren önemli bir azalma olmuştur. Başlangıçta 10^6 kob/ml düzeyinde olan asetik asit bakteri seviyesi muhafaza süresince de sabit kalmıştır. Kefir tanesinin % 5 oranında kullanıldığı örneklerde maya miktarı başlangıçta 10^5 kob/ml iken, soğuk muhafazanın 28. gününe kadar önemli bir değişiklik olmadığı, % 1 oranında kefir tanesi kullanılan örneklerde soğuk muhafazanın 14–21. günleri arasında önemli bir azalma olduğu belirlenmiştir. Bu

çalışmada; % 1 oranında kefir tanesi inokule edilen kefir örneklerinde laktokok ve laktobasil düzeyi yüksek bulunurken, % 5 oranında kefir tanesi kullanılan örneklerde maya ve asetik asit bakterilerinin miktarı daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışma bulgularına göre araştırmacılar süte inokule edilen kefir tanesi miktarının mikrobiyal flora üzerine etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Witthuhn ve ark. (2005)'nin geleneksel yöntemle kefir üretiminde mikrobiyal florada meydana gelen değişiklikleri araştırmak amacıyla yaptıkları bir çalışmada; kefir yapımı için gerekli olan kefir tanesini aktivasyon amacıyla 3 gün süreyle pastörize sütte bekletmişlerdir. Yapılan analizler sonucunda aktive edilen kefir tanelerinden maya izole edilememiştir. Araştırmacılar bu durumun maya düzeyinin klasik yöntemlerle izolasyon için gerekli olandan daha düşük düzeyde olmasından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular kefirin mikrobiyal bileşiminde; kefir üretim metodunun, kefir tanesi orijininin ve identifikasyonda kullanılan metodların etkili olabileceğini göstermektedir.

Kefir tanesinin mikrobiyal florasının incelendiği bir diğer çalışmada araştırmacılar kefir tanesinde $1,4 \times 10^8$ kob/g laktobasil, $3,9 \times 10^4$ kob/g laktokok ve $1,1 \times 10^7$ kob/g düzeyinde maya tespit etmişlerdir (Ninane ve ark., 2005).

Süte, kefir tanesi ilave edilerek elde edilen kefir ve bu yolla elde edilen kefirin maya olarak kullanılması sonucu oluşan son üründe mikrobiyal flora ve mikroorganizma düzeyinde farklılık oluşabileceği belirtilmektedir (Simova ve ark., 2002). Konuyla ilgili olarak Farnworth (2005) yaptığı bir çalışmada kefir tanesi, kefir kültürü ve kefir içeceğindeki mikroorganizma düzeylerinin farklı olduğunu tespit etmiştir (Çizelge 1.3.). Araştırmacı son ürün olan kefir içeceğindeki mikroorganizma düzeyinin kefir tanesine göre daha düşük olması nedeni ile kaliteli kefir üretiminde kefir tanesi kullanılmasının daha doğru bir uygulama olduğunu belirtmektedir.

Çizelge 1.3. Kefir tanesi, kefir kültürü ve kefirdeki mikroorganizma düzeyleri (log kob/ml) (Farnworth, 2005).

	Laktokok	Laktobasil	Mayalar
Kefir Tanesi	7,37	8,94	8,30
Kefir Kültürü	8,43	7,65	5,58
Kefir	8,54	7,45	5,24

Witthuhn ve ark. (2004)'nın Güney Afrika'nın farklı bölgelerinden alınan kefir tanelerindeki mikroorganizmaların izolasyon ve identifikasyonu amacı ile yaptıkları çalışmada; kefir tanelerinden bakteri türü olarak *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp. ve *Lactococcus* spp., maya türü olarak *Zygosaccharomyces*, *Candida* ve *Saccharomyces* türlerini izole etmişlerdir. Bu çalışmada kefir tanelerinden izole edilen *Lactobacillus curvatus*'un haricindeki tüm laktik asit bakterileri ve mayalar daha önce yapılan araştırmalarda izole ve identifiye edilmiştir. Bu çalışma Güney Afrika'da farklı bölgelerden sağlanan kefir tanelerinin farklı mikrobiyal floraya sahip olduğunu ortaya koymakta ve kefir tanesinin mikrobiyal kompozisyonunda coğrafik yapının da önemli bir etkisi olduğunu göstermektedir.

Kefir tanelerinin mikrobiyal florasını belirlemek amacıyla Türkiye'de yapılan bir çalışmada; deneysel olarak üretilen kefirde mikrobiyolojik yönden incelenmek üzere fermentasyonun 0, 5, 10, 15 ve 22. saatlerinde örnekler alınmıştır. Fermentasyon işleminin ardından kefir taneleri süttten ayrılarak elde edilen kefir 4 ± 1 °C'de depolanmıştır. Çalışmada ayrıca soğuk muhafazanın 0, 7, 14 ve 21. günlerinde de kefir örnekleri alınarak analiz edilmiştir. Kefir üretiminde kullanılan pastörize sütte bulunan laktik asit bakterileri 4,14 log kob/ml olarak tespit edilmiştir. Laktik asit bakterilerinin düzeyi inkübasyonun 5. saatinde 6,63; 10. saatinde 7,64 ve 22. saatte 8,64 log kob/ml olarak saptanmıştır. Başlangıçta sütte 3,75 log kob/ml olarak belirlenen laktokok düzeyi inkübasyonun 10. saatinde 7,21; 22. saatinde 8,64 log kob/ml'ye ulaşmıştır. Başlangıçta kullanılan süt örneğinde maya saptanmazken, inkübasyonun sonunda maya düzeyi 6,16 log kob/ml olarak belirlenmiştir. İnkübasyonun 15–22. saatleri arasında maya düzeyinde önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir. Kefir üretiminde kullanılan kefir tanesinde laktik asit bakterileri,

laktobasiller, laktokok ve maya miktarı sırasıyla 9,19; 9,05; 8,87 ve 6,55 log kob/ml olarak saptanmıştır. Çalışma sonunda kefir tanesinde bulunan laktik asit bakterilerinin maya sayısına oranı $10^9:10^6$ olarak belirlenmiştir (Güzel-Seydim ve ark., 2005).

Yüksekdağ ve ark. (2004) yaptıkları bir çalışma sonucunda, 15 adet Türk kefir örneğinden izole edilen 21 laktokok türünün; 11'inin *Lactococcus cremoris*, 4'ünün *Lactococcus lactis*, 3'ünün *Streptococcus thermophilus* ve 3'ünün de *Streptococcus durans* olduğunu tespit etmişlerdir.

Kefirde hijyen indikatörü olması nedeniyle koliform bakterilerin ve bozulmaya neden olmaları nedeniyle de küflerin bulunması arzu edilmemektedir. İşletmelerde yetersiz hijyen ve sanitasyon uygulamaları koliform mikroorganizmalar ile kontaminasyona neden olarak, kefir tanesi ve tüketime hazır üründe tat, lezzet ve koku değişimine neden olabilmektedir (İnal, 1990).

Angulo ve ark. (1993) yaptıkları bir çalışmada; incelenen kefir örneklerinde patojen ve bozulmaya neden olabilen mikroorganizmalar olan *Pediococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Acetobacter* türleri ve *Escherichia coli* türlerinden oluşan 5 farklı mikroorganizma türüne rastlamışlardır. Araştırmacılar bu durumun kefir üretiminde kullanılan sütlerin mikrobiyal kalitelerinin iyi olmamasından veya kefir üretiminin hijyenik şartlarda gerçekleştirilmemesinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

1.4. Kefirin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Kefir insan beslenmesi için gerekli olan protein, yağ, karbonhidratlar, vitamin ve mineral maddeleri kimyasal bileşiminde bulundurmaktadır (Çizelge 1.5.). Kefir organik asit ve alkoller dışında özellikle B₁, B₁₂, biotin, folik asit, K vitamini, kalsiyum, magnezyum ve fosfordan zengin bir besindir (Saloff-Coste, 1996).

Çizelge 1.4. Kefirin bazı kimyasal bileşenleri ve enerji değeri (Halle ve ark., 1994).

Bileşen	Değer	Birim	Bileşen	Değer	Birim
Su	87,5	ml	Vitaminler		
Protein	3,3	g	A	0,06	g
Yağ	3,5	g	B ₁	0,04	g
Laktoz	4,0	g	B ₂	0,17	g
Enerji	65	kcal	B ₆	0,05	g
Süt asidi	0,8	g	B ₁₂	0,5	g
Etil alkol	0,9	g	Karoten	0,02	g
Kolesterol	13	mg	Niasin	0,09	g
Esansiyel Aminoasitler			C	1	g
Triptofan	0,05	g	D	0,08	g
Fenilalanin+Tirozin	0,35	g	E	0,11	g
Lösin	0,34	g	Mineraller		
İsolösin	0,21	g	Kalsiyum	0,12	g
Treonin	0,17	g	Fosfor	0,10	g
Metionin+Sistin	0,12	g	Magnezyum	0,12	g
Lisin	0,27	g	Potasyum	0,15	g
Valin	0,22	g	Sodyum	0,05	g
İz elementler			Klorid	0,10	g
Demir	0,05	mg			
Bakır	12	µg	Manganez	5	µg
Molibden	5,5	µg	Çinko	0,36	mg

Kefirin pH değeri 4,2–4,6 arasında değişmekte olup, kullanılan sütün kalitesi, kuru madde miktarı, kefir kültürünü oluşturan mikroorganizmaların çeşitliliği, kefirin üretim teknolojileri, üretim sırasında sütün mayalanma sıcaklığı, fermentasyon süresi ve üretimden tüketime kadar geçen süre kefirin bileşimini etkilemektedir (Odet, 1995; Saloff-Coste, 1996). Kefirde süte göre daha az miktarda laktoz bulunması kefirin laktoz intoleransı olan kişiler için süte alternatif bir gıda olmasını sağlamaktadır (Saloff-Coste, 1996).

Kefir üretimi ve muhafazası süresince laktoz, yağ, protein ve organik asit miktarlarında bir takım değişiklikler meydana gelmektedir (Irigoyen ve ark., 2005). Kefirin fermentasyonu sırasında laktik asit, alkol ve aroma oluşumu ile birlikte protein denatürasyonu gibi birçok kimyasal olay şekillenir. Örneğin süt şekeri olarak adlandırılan laktozun fermentasyon sırasında laktik asit bakterileri tarafından parçalanması ile laktik asit oluşurken, mayalar tarafından fermente edilmesi sonucu alkol oluşmaktadır. Fermentasyon sıcaklığına bağlı olarak düşük ısı derecelerinde mayaların etkisiyle alkol fermentasyonu, yüksek ısı derecelerinde ise laktik asit bakterilerinin etkisiyle laktik fermentasyon gelişmektedir. Ayrıca fermentasyon ve kefirin muhafazası süresince kefir tanesinde bulunan proteolitik bakteriler proteinlerin bir kısmının aminoasitlere kadar parçalanmasını sağlamaktadır. Sonuç olarak; fermentasyon süresince meydana gelen birçok biyokimyasal değişiklikler ile ortaya çıkan metabolitler kefirin kendine özgü lezzet ve aroma özelliklerinin oluşumunu ve kimyasal yapısının şekillenmesini sağlamaktadır (Metin ve Tavlaş, 1986).

Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'ne göre kefirin kimyasal bileşiminde sadece süt proteini ve titrasyon asitliğine ait değerler belirtilmiş olup, bu değerler Çizelge 1.5.de verilmiştir.

Çizelge 1.5. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde belirtilen kefirin bileşimi (Anon, 2001b).

Özellik	Miktar (en az)
Süt Proteini (Ağırlıkça %)	2,8
Titrasyon Asitliği (Laktik asit olarak ağırlıkça %)	0,6
Toplam aerob mezofil genel canlı (kob/ml)	10^7
Mayalar (kob/ml)	10^4

Gerçekte kefirin kendine özgü aromasını sağlayan; asit oluşumu ve alkol fermentasyonudur (Marshall ve Cole, 1985; Marquina ve ark., 2002; Beshkova ve ark., 2003; Ötleş ve Çağındı, 2003). Fermentasyon sonucu ortaya çıkan laktik, süksinik, pürivik, ketoglutarik ve oksalik asitler kefire ferahlatıcı ve asidik bir tat

vermekte, karbonil bileşikleri, uçucu yağ asitleri ve alkollerden oluşan yan ürünler ise hoşça giden karakteristik aromayı oluşturmaktadır (Aydar, 1994).

Kefir taneleri süte ilave edildiğinde sütün dip kısmına çökerler ancak fermentasyon ilerledikçe üretilen gazla birlikte yüzeye doğru yükselirler. Genel olarak fermentasyon süresine bağlı olmak koşulu ile kefirin laktik asit konsantrasyonu % 0,9–1,1; alkol konsantrasyonu ise % 0,5–1 düzeyleri arasında olabilmektedir (Ünlütürk ve Turantaş, 1998).

Kefir üretimi sırasında diasetil ve asetaldehit gibi aromatik bileşikler ortaya çıkmaktadır (Zourari ve Anifantakis, 1988). Bunlardan diasetil; *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis* ve *Leuconostoc* spp. tarafından üretilmektedir (Libudzisz ve Piatkiewicz, 1990). Laktik asit kefirin fermentasyonu sonucu en yüksek konsantrasyonda oluşan organik asittir (Alm, 1982a). Kefirde bulunan bazı aminoasitler ise valin, lösin, lisin ve serindir. Çiğ sütle karşılaştırıldığında alanin ve aspartik asit miktarının kefirde daha fazla olduğu belirtilmektedir (Alm, 1982b).

Fermentasyon sürecinde ortaya çıkan etanol ve CO₂ miktarı kefir üretiminin koşullarına bağlıdır (Koroleva, 1982). Kefir tanesi kullanılarak üretilen kefirin CO₂ içeriğinin 0,85–1,05 g/l olduğu, starter kültür kullanılarak üretilen kefirin ise CO₂ miktarının 1,7 g/l olduğu bildirilmektedir (Beshkova ve ark., 2002; Simova ve ark., 2002). Kefirin fermentasyonu süresince asetaldehit ve asetoin konsantrasyonu artarken, muhafazası süresince ise asetaldehit miktarının arttığı, asetoin miktarının ise azaldığı bildirilmiştir (Güzel-Seydim ve ark., 2000a, 2000b).

Kefir üretiminde UHT süt kullanımının incelendiği bir çalışmada; deneysel olarak % 1 ve % 3 oranında kefir tanesi ilave edilerek üretilen kefir örnekleri yağ, protein ve laktoz miktarları yönünden analiz edilmiştir. Sonuç olarak % 1 ve % 3 yağ içeren UHT süttten yapılan kefirlerin asitlik değerlerinin birbirine yakın olduğu, yağ ve protein miktarında ise 48 saatlik süre sonunda bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir. Başlangıçta % 3 yağlı UHT sütün laktoz miktarı % 4,75 iken; 24 saatlik fermentasyon süresi sonunda % 3,92 olduğu belirtilmiştir. Başlangıçta laktoz

miktarı % 1 yağlı sütte % 4,58 iken; 24. saatte % 3,85'e düşmüştür. Çalışma sonuçları % 1 ve % 3 yağlı süt kullanılarak yapılan kefirler arasında duyuşal farklılığa rastlanmadığını ortaya koymaktadır (Merin ve Rosenthal, 1986).

Başka bir çalışmada ise ticari starter kültür kullanılarak deneysel olarak üretilen kefir örneklerinden fermentasyonun 2, 8, 24, 48, 96 ve 168. saatlerinde örnekler alınarak fiziksel ve kimyasal değışiklikler yönünden incelenmiştir. Başlangıçta ortalama 6,68 olan pH değeri önemli bir düşüş göstererek, 24. saatte 4,24'e düşmüştür. Fermentasyonun 24. saatinden sonra daha yavaş bir düşüş göstererek, 168. saatin sonunda ortalama 3,88 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmanın başında ortalama 0,14 olarak ölçülen titre edilebilir asitlik değeri, 168. saatte 1,32 düzeyine ulaşmıştır. Kefir üretiminde kullanılan sütte laktoz miktarı ortalama 4,92 iken, bu değeri 168. saatin sonunda ortalama 3,78 olarak belirlenmiştir. Laktoz miktarındaki azalma ilk 24 saatte hızlı daha sonra yavaş olmuştur. Etanol miktarı yavaş bir artış göstererek başlangıçta ortalama 0,002 iken, fermentasyonun 168. saatinde ortalama 0,018'e yükselmiştir. Etanol miktarındaki önemli artışın 48-168. saatler arasında olduğu gözlenmiştir (Fontan ve ark., 2006).

Irigoyen ve ark. (2005) tarafından UHT süte % 1 ve % 5 oranında kefir tanesi ilave edilerek yapılan kefir örnekleri 24 saatlik fermentasyon süresinden sonra soğuk muhafazanın 2, 7, 14, 21 ve 28. günlerinde analiz edilmiştir. Kefir üretiminde kullanılan tam yağlı UHT sütün yağ miktarı % 3,6'dır. İnkübasyonun 24. saatinde % 1 ve % 5 oranında kefir tanesi kullanılan kefir örneklerinin yağ miktarı sırasıyla 3,51 ve 3,60 g/100ml olarak belirlenmiştir. Soğuk muhafazanın 28. gününde elde edilen değeri ise sırasıyla 3,23 ve 3,48 g/100ml olarak belirlenmiştir. Yağ miktarında özellikle 14. günden sonra önemli bir azalma olduğu gözlenmiş, bu durumun lipolitik küflerin üremesi sonucunda oluşabileceği düşünülmüştür. İnokule edilen kefir tanelerinin oranı kefir örneklerinin yağ miktarını önemli derecede etkilememiştir. Fermentasyon süresi sonunda % 1 ve % 5 oranında kefir tanesi kullanılarak elde edilen kefir örneklerinde kuru madde miktarı 11,7 g/100ml olarak tespit edilmiştir. Kefir üretiminde kullanılan sütün yağ ve kuru madde miktarı ile kefirdeki miktarların farklı olmadığı bildirilmiştir. Sütte bulunan laktoz miktarı fermentasyonun ilk 24

saatinde % 20–25 oranında azalmıştır. Kefir üretiminde kullanılan kefir tanesi oranı laktoz düzeyini etkilemiştir. % 1 oranında kefir tanesi inoküle edilen örneklerde laktoz miktarı daha yüksek saptanmıştır. Bunun yanında yüksek oranda kefir tanesi kullanılarak üretilen kefir örneklerinde viskozitenin daha fazla olduğu belirlenmiştir. Kefirin fermentasyonu süresince pH değerinde 2 birimlik bir düşüş olduğu, muhafazası süresince önemli bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Süte inoküle edilen kefir tanesi oranının pH değerini önemli derecede etkilediği belirlenmiştir. Kefir tanesinin % 1 oranında kullanıldığı örneklerde pH değerleri daha yüksek ölçülmüştür. Kefir örneklerinin duyu analizi sonuçlarına bakıldığında soğuk muhafazanın ilk günlerinde lezzet açısından kabul edilebilirliğin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte örneklerin duyu özelliklerinin soğuk muhafazanın ilk bir haftasında kabul edilebilir düzeyde olduğu belirtilmektedir. Sonuç olarak çalışmada; kefir üretiminde kullanılan kefir tanesi oranının viskozite, laktoz ve pH değerleri üzerine etkili olduğu, fakat yağ ve kuru madde miktarını etkilemediği tespit edilmiştir.

Kefir üretiminde kullanılan süt çeşidinin kefirin mikrobiyal ve duyu özelliklerine etkisi üzerine yapılan bir çalışmada; laktik asit bakterileri ve mayaların mikroflorasının baskın ögeleri olduğu gözlenmiştir. Geleneksel kefirde CO₂ üretimine bağlı olarak oluşan köpüklü yapı starter kültür ile yapılan kefir örneklerinde oluşmamıştır. Kefirin duyu niteliği üzerine üretimde kullanılan süt çeşidi ve muhafaza süresinin starter kültüre oranla daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte starter kültürün ürünün tadı ve viskozitesi üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Çeşitli hayvan sütlerinden elde edilen kefirler arasında lezzet sıralaması yapıldığında koyun sütünden yapılan kefir lezzet açısından tüketicilerden en yüksek puanı alırken, onu inek ve keçi sütünden yapılan kefirlerin izlediği belirtilmektedir (Wszolek ve ark., 2001).

Güzel-Seydim ve ark.(2005)'nin kefirin fermentasyonu süresince pH değerinde oluşan değişiklikleri izledikleri bir çalışmada; kefir üretiminde kullanılan sütün pH değerinin 6,39'dan, fermentasyon süresince laktik asit bakterilerinin de

gelişmesine bağlı olarak 5. saatte 6,05; 10. saatte 5,75; 15. saatte 5,31 ve 22. saatte 4,55'e düştüğünü tespit etmişlerdir.

Meyveli kefirin soğuk muhafazası sırasında meydana gelen kimyasal ve duyuşsal değişikliklerin incelendiği bir çalışmada; aroma kullanılması ve muhafaza süresinin kimyasal parametreleri önemli derecede etkilediği belirlenmiştir. Aromalı kefir içeceklerinin muhafaza süresince pH değerinde azalma gözlenirken, asitlik, alkol miktarı ve CO₂ değerlerinde artış olduğu belirlenmiştir (Yılmaz ve ark., 2006).

1.5. Kefir Üretimi

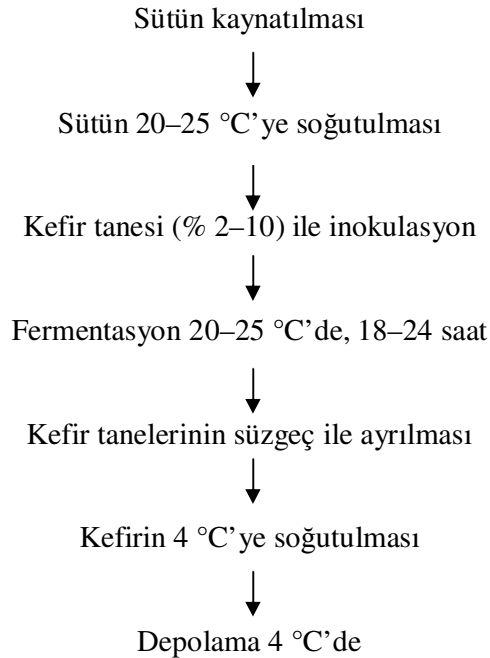
Eski Sovyetler Birliği'nde kefirin ticari olarak üretimi 1930'lu yıllarda başlamıştır. Ticari olarak üretilen ilk kefir set tipi bir üründür. Bu şekilde kefir üretiminde süte kefir tanesi inokule edilerek, şişelere doldurulmaktadır. Bu şekilde inkübasyona bırakılan süütün kefire dönüşümü şişede gerçekleşmektedir. Son aşamada ise elde edilen ürün soğutulmaktadır. Bu şekilde üretilen kefirin kalitesi evde üretilene göre daha düşük bulunmuştur. Bu nedenle 1950'li yılların sonunda M.G. Demurov başkanlığındaki All-Union Dairy Research Institute özellikleri geleneksel kefire yakın bir ürün elde etmek amacıyla yeni bir yöntem olan stirred tipi kefir üretimine başlamıştır. Bu yöntemde süte büyük bir kaptay mayalanarak, fermentasyona tabi tutulmakta ve kefir oluşumundan sonra ürün soğutulmaktadır. Bu yöntemle üretilen kefirin serinletici etkisi, keskin tat ve aroması olduğu belirtilmektedir. Eski Sovyetler Birliği'nde 1984 yılında kefir üretimi 12 milyon tonu bulmuştur. Bu değer tüm fermente süte ürünleri arasında % 80'lik bir dilimi oluşturmaktadır (Koroleva, 1988a).

Günümüzde kefir üretiminde yaygın olarak geleneksel ve endüstriyel üretim metodları kullanılmaktadır (Ötleş ve Çağındı, 2003).

1.5.1. Geleneksel Kefir Üretimi

Geleneksel kefir üretimi süte doğrudan kefir tanesi ilave edilerek yapılmaktadır (Koroleva, 1982; Halle ve ark., 1994). Çiğ süt 85–90 °C’de 20 dakika ısıtıldıktan sonra, 20–25 °C’ye soğutulur ve % 2–10 (genellikle % 5) oranında kefir tanesi ilave edilerek, 20–25 °C’de 18–24 saat fermentasyona bırakılır. Bu sürenin sonunda bir süzgeç yardımıyla kefir taneleri süttten ayrılır. Elde edilen kefir 4 °C’de depolanır ve tüketime sunulur. Süttten ayrılan kefir taneleri ise bir sonraki inokulasyona kadar soğukta (+4 °C’de) muhafaza edilir. Daha uzun süre saklanacaksa liyofilize edilir veya dondurulur (Karagözlü ve Kavas, 2000).

Süttün kefir taneleri ile fermentasyonu yaklaşık 24 saattir. Bu süre içerisinde homofermentatif laktik asit bakterileri hızla üreyerek, pH’nın düşmesini sağlamaktadır. Düşük pH laktobasillerin üremesini artırırken, laktokok düzeyinde azalmaya neden olmaktadır. Ortamda mayaların bulunması ile birlikte fermentasyon sıcaklığının 21–23 °C olması aroma oluşumunu sağlayan heterofermentatif streptokokların üremesini kolaylaştırmaktadır (Koroleva, 1982).



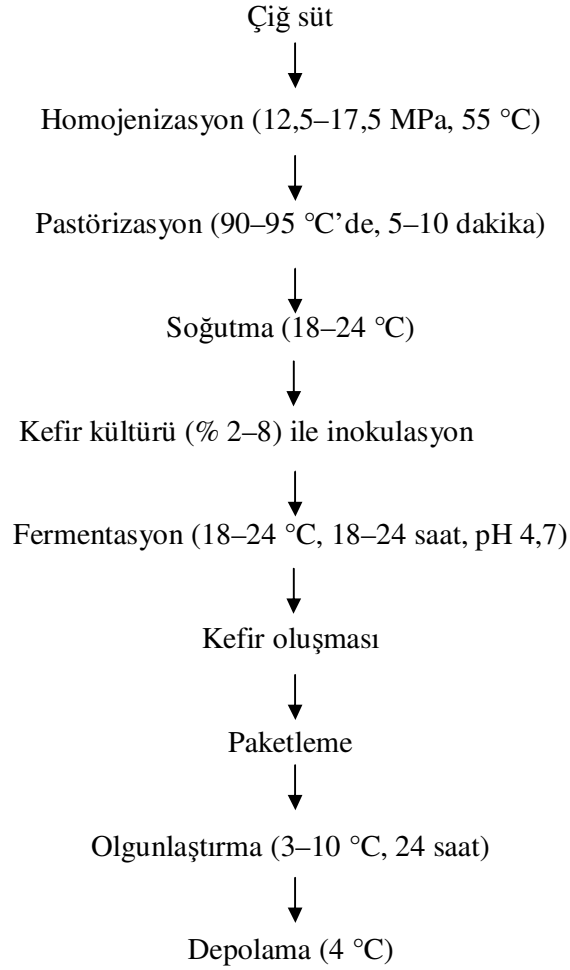
Şekil 1.5. Geleneksel kefir üretim aşamaları (Karagözlü ve Kavas, 2001).

TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi (MAM) tarafından kefir bileşiminin saptanması ve starter kültür kullanılarak üretilen kefirin mikrobiyal değişiminin izlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada; kefir tanesi kullanılarak üretilen kefirde mikrobiyal bileşimin starter kültürle üretilen kefiirlere göre daha heterojen olduğu ve farklı mikroorganizmalar içerdiği belirlenmiştir. Kefir tanesi kullanımı yoluyla üretilen kefirin hazırlık aşamasında birçok defa kullanılması ile zamanla mikrobiyolojik bulaşmaların oluşma riski oldukça yüksek olup, transferler sırasında istenmeyen bakteriler ile kontaminasyon şekillenebilmektedir. Bu nedenle üretim sırasında hijyenik koşulların sağlanması ile birlikte starter kültür kullanılmasının da istenmeyen mikroorganizmaların gelişiminin engellenmesi açısından önemli olduğu belirtilmektedir (Anon, 2004).

Kefir tanesi kullanarak kefir üretiminin pratikte uygulaması zor bir yöntem olması ve kefir üretiminde starter kültür kullanmanın ürün standardizasyonu açısından önemi nedeniyle günümüzde endüstriyel üretim yaygınlaşmıştır (Marshall ve Cole, 1985).

1.5.2. Endüstriyel Kefir Üretimi

Endüstriyel kefir üretiminde farklı metodlar kullanılmasına rağmen, genel olarak prensip aynıdır. Kefir üretiminde kullanılacak olan süt öncelikle mikrobiyolojik, organoleptik ve kimyasal kontrolden geçmektedir. İlk aşamada; süt homojenize edildikten sonra kuru madde miktarı % 8'e ayarlanır ve 85–87 °C'de 5–10 dakika veya 90–95 °C'de 2–3 dakika ısı işlemi uygulanır. Sonra 18–24 °C'ye soğutularak, % 2–8 oranında kefir kültürü ilave edilerek, 18–24 saat fermentasyona bırakılmasının ardından, elde edilen kefir şişelere veya diğer paketleme materyallerine doldurularak, 3–10 °C'de olgunlaştırma işlemine tabi tutulur ve elde edilen kefir 4 °C'de depolanır (Koroleva, 1988a). Olgunlaştırma işlemi aroma ve kıvam oluşumunu sağlamaktadır (Aydar, 1994).



Şekil 1.6. Endüstriyel kefir üretim aşamaları (Koroleva, 1988a).

Kefir tanesi kullanarak endüstriyel kefir üretimi oldukça zordur. Bu durum kefir tanesinin orijininin farklı olması, kullanma ve muhafaza koşulları sonrası aktivitesinin azalmasından kaynaklanmaktadır (Zourari ve Anifantakis, 1988). Endüstriyel kefir üretiminde kaliteli ürün elde etmek için en iyi yöntem; kefir tanesi yerine istenilen özellikleri sağlayabilecek starter kültür kullanmaktır (Fontan ve ark., 2006). Starter kültür elde etmek için öncelikle kefir tanesi süte eklenerek, 24-26 °C'de pH 4,6'ya düşene kadar inkübe edilmektedir. İnkübasyondan sonra kefir taneleri süzülerek ayrılmakta ve bir sonraki starter kültür hazırlanmasında kullanılmak üzere depolanmaktadır. Hazırlanan kefir starter kültürü pastörize süte % 2-8 oranında ilave edilerek, kefir üretimi gerçekleştirilmektedir.

Son zamanlarda endüstriyel kefir üretiminin artması nedeni ile ürün miktarını arttırmak ve kontaminasyon riskini azaltmak için liyofilize kültür kullanımı daha da yaygınlaşmıştır (Hertzler ve Clancy, 2003).

Kefir üretiminde geleneksel yöntem kullanılması ile kefirin starter kültür kullanılarak üretilmesi sonucu kefirin bileşimi ve duyuşal niteliklerinde önemli farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Yapılan araştırma sonuçlarına göre; kefir tanesi kullanılarak üretilen kefirin özelliklerinin, starter kültür kullanılarak üretilenlere göre daha iyi olduğu, starter kültür kullanılarak üretilen kefirin; daha az asidik ve kremsi bir yapıda olduğu belirtilmektedir (Otsoa ve ark., 2006). Kefire meyve aroması eklenmesi ile duyuşal olarak kabul edilebilirliğinin arttığı ifade edilmektedir (Muir ve ark., 1999).

Endüstriyel üretimde kullanılan liyofilize kültürlerin çok az miktarda ve çoğunlukla da hiç maya içermediği belirtilmektedir. Bu durum mayaların fermentasyonu sonucu ortaya çıkan CO₂ nedeniyle ürünün ambalajında meydana gelen görüntünün ürünün müşteriler tarafından bozuk olarak algılanmasına yol açabileceği, bu nedenle de ticari amaçlı üretilen kefirlerin maya içermediği şeklinde açıklanmaktadır. Bu nedenlerden dolayı ticari amaçlı üretilen kefir kültürleri streptokokları içermekte ve bu ürünlerde geleneksel kefirde olduğu gibi köpüklü bir yapı olmamakla birlikte etanol içeriği de (< % 0,01) daha az olmaktadır (Marshall ve Cole, 1985).

1.6. Kefirin Beslenme ve Sağlık Açısından Önemi

Sütün bileşiminde bulunan tüm besin öğelerini içermesi, kefir tanesinin yapısında bulunan mikroorganizmaların etkisiyle meydana gelen bileşikler sonucunda besleyici değerinin artması ve sindirimini kolay olması kefirin besin olarak önemini ortaya koymaktadır. Kefir kolay sindirilmekle birlikte, yapısında bulunan vitamin, mineral ve proteinler de sağlıklı bir immun sistemin oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Kefirin düzenli olarak tüketilmesi barsak hareketlerinin artmasını ve gaz oluşumunun

azalmasını sağlayarak sağlıklı bir sindirim sisteminin gelişmesine yardımcı olmaktadır. Kefirin; hastalar, yaşlılar, hamile ve emziren kadınlar ile laktoz intoleransı olan kişiler tarafından tüketilmesi önerilmektedir (Çağındı ve Ötleş, 2003).

Kefirin tedavi edici etkilerine yönelik çalışmalar devam etmekle birlikte, özellikle antimikrobiyal ve antikanserojen etkisi ile mide ve bağırsak florasının dengesini sağlamaya yönelik etkileri araştırılmaktadır (Çağındı ve Ötleş, 2003).

Eski Sovyetler Birliği'nde hastane ve sanatoryumlarda metabolik bozukluklar, aterosklerozis ve alerjik hastalıklar gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kefir kullanıldığı belirtilmektedir (Koroleva, 1988a). Kefir ayrıca modern tıp tedavisinin mümkün olmadığı zamanlarda Kafkasya'da tüberküloz, kanser ve gastrointestinal rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmıştır. Kafkasya'da yaşayan insanların uzun ömürlü olmalarının da kefir tüketimine bağlı olduğu birçok araştırmacı tarafından savunulmaktadır (Zourari ve Anifantakis, 1988).

Kefir tanesinde bulunan laktik asit bakterilerinin ürettiği; laktik asit, H_2O_2 ve bakteriyosinler antimikrobiyal etki yaratmaktadır. Laktik asit ortam pH'sını düşürerek diğer bakterilerin gelişmesini engellemekte, H_2O_2 ve asetik asit ise antibakteriyel etki göstererek, bazı gram pozitif ve gram negatif bakteriler ile mantarlara karşı etkili olmaktadır (Collins ve Aramaki, 1980).

Kefirde bulunan asetik asit bakterileri bağırsakta protein proteolizine neden olarak, serbest aminoasitlerin birikimine yardım etmekte ve B grubu vitaminlerin oluşumunu sağlamaktadır (Koroleva, 1988a).

Fermentasyon sonrası sütte bulunan laktoz miktarının % 75 oranında azalması nedeni ile kefirin laktoza hassasiyet gösteren kişiler tarafından rahatlıkla tüketilebileceği bildirilmiştir (Yılmaz ve ark., 2006). Süt ile karşılaştırıldığında yoğurt gibi fermente bir süt ürünü tüketilmesi sonucu laktoz sindiriminin daha iyi olduğu bilinmektedir. Yoğurt tüketildiğinde laktoz sindiriminin daha iyi olmasının

nedeni; yoğurt starter kültüründe bulunan bakterilerin β -galaktosidaz aktivitesine sahip olmasıdır. Yoğurtta bulunan bazı bakteriler mide asidine dayanıklı olup, duodenumda aktivitelerini sürdürebilmektedir. Duodenumda safra asidi, bakteri hücrelerinin yıkımına neden olarak, lümen β -galaktosidaz salınımını sağlamakta ve hücre duvarı geçirgenliğinin artması sonucu laktoz hücre içine kolaylıkla girmektedir. Bu da laktozun sindirimini arttırmaktadır (Martini ve ark., 1987; Mustapha ve ark., 1997).

Sade ve aromalı kefir tüketiminin laktoz sindirimi üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada; laktoz intoleransı olan yetişkin bireylere aynı miktarda laktoz içeren süt, yoğurt, kefir, aromalı yoğurt ve aromalı kefir verilmiştir. Çalışmanın sonunda süt, yoğurt, kefir, aromalı yoğurt ve aromalı kefirin β -galaktosidaz aktivitesi sırası ile 0; 3,4; 5,4; 3,2 ve 5,2 olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda kefirin β -galaktosidaz aktivitesinin yoğurda göre yaklaşık % 60 daha fazla olduğu belirtilmektedir (Hertzler ve Clancy, 2003).

Kefirin patojen bakteriler olan *Salmonella*, *Helicobacter*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogenes*'e karşı etkili olduğu belirtilmektedir (Kwon ve ark., 2003; Rodrigues ve ark., 2005).

Kefirde *Salmonella enteritidis*'in varlığı üzerine yapılan bir çalışmada; Arjantin'de bulunan Lugan nehrinden izole edilen 53 *Salmonella enteritidis* suşu 4 ve 22 °C'de deneysel olarak kefire inokule edilmiştir. Kontamine kefirdeki *Salmonella enteritidis* 4 °C'de 24 saatte ve 22 °C'de 18 saatte tamamen yok olmuştur (Anselmo ve ark., 2001)

Kefirde patojenlerin yaşamsal aktiviteleri üzerine yapılan başka bir çalışmada ise; kefire fermentasyon öncesi ve sonrasında E.coli O157:H7, *L. monocytogenes 4b* ve *Y. enterocolitica O3* inokule edilmiştir. Çalışmada sonucunda E.coli O157:H7 ve *L. monocytogenes 4b* fermentasyon süresince gelişme göstermiş ve 21 günlük soğuk muhafaza süresince canlılığını korumuştur. *Y. enterocolitica O3* ise soğuk

muhafazada 14 gün canlı kalmıştır. Sonuç olarak patojen mikroorganizmaların fermentasyon süresince gelişmelerini sürdürmesi nedeniyle, halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği belirtilmektedir (Gülmez ve Güven, 2003b). Buna benzer diğer bir çalışmada E.coli O157:H7, *L. monocytogenes 4b* ve *Y. enterocolitica O3* pastörize edilen kefir örneklerine inoküle edilerek fermentasyon ve 21 günlük soğuk muhafaza süresince izlenmiştir. Pastörize edilen kefir örneklerinde fermentasyon süresince patojen mikroorganizmalarda üreme görülmüş ve bu mikroorganizmaların soğuk muhafaza süresince de canlılıklarını koruduğu saptanmıştır. Pastörize edilmemiş kefir örneklerinde E.coli O157:H7, pastörize edilmiş kefir örneklerinde *L. monocytogenes 4b* en dirençli mikroorganizma olarak belirlenmiştir. Fermentasyon süresinin 48 saat olduğu kefir örneklerinin, 24 saat fermente edilenlere göre patojen mikroorganizmaları inhibe edici etkisinin ve asit oluşumunun yaklaşık % 20–30 oranında daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Starter kültürün inhibisyon özelliği fermentasyon süresince patojen mikroorganizmaların üremesini engellemediği gibi, soğuk muhafaza sırasında mikroorganizmalar canlılıklarını sürdürmüşlerdir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar; asitlik ve antimikrobiyal madde oluşumunun yavaş geliştiği fermentasyonun erken evresinde patojen mikroorganizmaların rahatlıkla gelişebildiğini göstermektedir. Bu nedenle fermentasyon öncesi patojen mikroorganizmalarla kontaminasyon fermentasyon sonrası kontaminasyondan daha riskli kabul edilmektedir (Gülmez ve Güven, 2003a).

Kefirin çeşitli mikroorganizma türleri üzerine antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği bir çalışmada; en duyarlı mikroorganizmanın *Streptococcus pyogenes* ve onu takip eden türlerin ise *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* ve *Listeria monocytogenes* olduğu tespit edilmiştir (Rodrigues ve ark., 2005).

Yapılan araştırmaların sonuçları oldukça aydınlatıcı olsa da, konu ile ilgili daha fazla araştırmanın yapılması kefirin beslenme ve sağlık açısından önemini ortaya koyacaktır.

1.7. Kefirin Muhafazası

Kefir taneleri günlük olarak taze süte transfer edilmek suretiyle canlı kalabilmekte ve gelişmeleri için yaklaşık 20 saatlik bir inkübasyon periyodu gerekmektedir. Bu süre içerisinde tanelerin hacmi % 25 artmaktadır (Halle ve ark., 1994). Kefir tanesinin canlılığını koruyabilmesi için genellikle bu işleme başvurulmakla birlikte, kurutulmuş kefir tanesinin gelişme yeteneğinin hiç olmadığı veya çok az olduğu belirtilmektedir (La Riviere ve ark., 1967).

Farklı araştırmacılara göre kefir tanelerini uzun süre saklamanın en iyi yolu düşük sıcaklıkta muhafaza etmektir. Kefir tanelerinin -80 veya -120 °C'de 120 gün muhafaza edilmesi sonucu fermentasyon özelliklerinde bir değişim olmadığı belirlenmiştir (Garrote ve ark., 1997).

Uzun süre kullanılmayacak olan kefir tanelerini muhafaza etmenin bir diğer yolu da; kefir tanelerini temiz ve soğuk su ile çalkaladıktan sonra oda sıcaklığında, temiz bir ortamda 36–48 saat süre ile kurutulup alüminyum folyo ya da temiz bir ambalaj kağıdı ile sarılarak serin ve kuru bir yerde saklanmasıdır. Bu yöntemle kurutulan kefir tanelerinin özelliklerini kaybetmeden 12–18 ay muhafaza edilebileceği belirtilmektedir (Altınayar, 1994).

Tekniğine uygun olarak üretilen kefirin raf ömrü 7 gün olmakla birlikte, uygulama hatalarına bağlı olarak raf ömrünün kısılabileceği belirtilmektedir (Altınayar, 1994). Kefir üretiminde görülen bazı hatalar Çizelge 1.6.'da verilmiştir.

Çizelge 1.6. Kefir üretiminde görülen hatalar (Altınayar, 1994).

Hatalar	Nedenleri
Ekşi süt lezzeti	Mayaların, aroma ve asetik asit bakterilerinin yetersiz üremesi, uzun veya kısa süreli inkübasyon, kullanılan kültür miktarının fazlalığı.
Aşırı gaz oluşumu, köpürme	Süt/maya oranının 1/30'dan az oluşu, mayaların ve aroma bakterilerinin aşırı üremesi, inkübasyon ısısının yetersizliği, inkübasyon süresinin uzun olması
Starter aktivitesinin zayıflaması	Sütte inhibitörlerin varlığı, kefir granüllerinin yıkanması
Lezzet hataları	Yukarıda belirtilen hataların mevcudiyeti, kefir granüllerinin uygun koşullarda saklanmaması
Kefir granüllerinin yumuşak ve yapışkan kıvamda oluşu	Mayaların aşırı gelişmesi, zararlı mayaların karışması, inkübasyon ısısının yetersizliği, inkübasyon süresinin fazla olması
Süt serumunun ayrılması	Katılaşmanın meydana gelmesinden sonra işletme kültürünün karıştırılması

Günümüzde hem kullanılan starter kültürlerin farklı olması hem de uygulanan teknolojilerin farklı olması nedeni ile birbirinden farklı nitelikte kefirler üretilmektedir. Kaliteli bir kefir % 0,6–0,9 laktik asit, % 0,6–0,8 alkol ve % 50 civarında CO₂ ihtiva etmeli, akıcı kıvamda ve homojen olmalıdır. Ayrıca kefir içildiğinde hafif maya tadı ve aroması hissedilmeli ve serinletici nitelikte olmalıdır

(Altınayar, 1994; Aydar, 1994). Çizelge 1.7.'de kefirin puanlama tekniği ile ilgili kriterler verilmiştir.

Çizelge 1.7. Kefirin puanlama tekniği (Metin ve Tavlaş, 1986).

Nitelikler	Puan
Görünüm	
Hatasız	5
Ambalajda aşırı bombaj oluşumu	1
Renk	1
Serum ayrılması	1
Küf gelişimi	1
Aşırı gaz oluşumu ve köpük	1
Kıvam	
Hatasız	5
Kıvamın yeterli olması	1
Aşırı	2
Uzayan yapı	1
Lezzet	
Hatasız	5
Aşırı mayamsı	1
Küfümsü	1
Peynir/sirke	1
Aşırı fermentasyon	1
Yavanlık/acılık/yanık	1
Homojen olmayan	1

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. GEREÇ

Bu çalışmada, Aralık 2006 ve Mayıs 2007 tarihleri arasında Ankara’da marketlerde satışı sunulan 4 farklı firmaya ait 70 kefir, 40 meyveli kefir ve 10 adet light kefir olmak üzere, toplam 120 kefir örneği gereç olarak kullanıldı.

2.2. YÖNTEM

2.2.1. Örneklerin Alınması

Analiz için alınan örnekler, orijinal ambalajı içerisinde soğuk zincir altında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı laboratuvarlarına getirilerek mikrobiyolojik ve kimyasal analizleri yapılmıştır.

2.2.2. Mikrobiyolojik Analizler

Çalışmada kefir örnekleri; aerob mezofil genel canlı, laktobasiller, enterokoklar, enterobakteriler, koliform bakteriler, fekal koliformlar, *E.coli*, maya ve küf yönünden aşağıda belirtilen yöntemler doğrultusunda incelendi (Çizelge 2.1.).

2.2.2.1. Aerob mezofil genel canlı (Amge) İzolasyonu

Aerob mezofil genel canlı sayısının belirlenmesinde, Tryptone Soya Agar (TSA-Oxoid CM 131) besi yerine damla plak yöntemiyle ekimler yapılarak, plaklar aerob ortamda 30 °C’de 48–72 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda plaklarda gelişen tüm koloniler sayılarak değerlendirmeye alındı (Swanson ve ark., 1992).

2.2.2.2. Laktobasillerin İzolasyonu

Laktobasillerin izolasyonu için MRS (De Man Rogosa Sharpe) Agar (MRS Agar-Oxoid CM 361; pH 6,2) besi yerine damla plak yöntemiyle ekimler yapılarak, plaklar 30 °C'de, 48 saat anaerob olarak inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda üreyen beyaz ve opak görünümlü koloniler değerlendirmeye alındı (De Man ve ark., 1960; Swanson ve ark., 1992).

2.2.2.3. Enterokokların İzolasyonu

Enterokok izolasyonu için Slanetz-Bartley Medium (SB-Oxoid CM-377) besi yerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılarak, plaklar 37 °C'de 24-48 saat aerob olarak inkübe edildi. İnkübasyon sonunda oluşan pembe ve koyu kırmızı renkli koloniler enterokok olarak değerlendirildi (Hartman ve ark., 1992).

2.2.2.4. Enterobakterilerin İzolasyonu

Enterobakterilerin belirlenmesinde Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG-Oxoid CM 485) besi yerine yayma plak yöntemiyle ekimler yapılarak, plaklar 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda üreyen pembe-kırmızı koloniler sayılarak değerlendirildi (Hitchins ve ark., 1992).

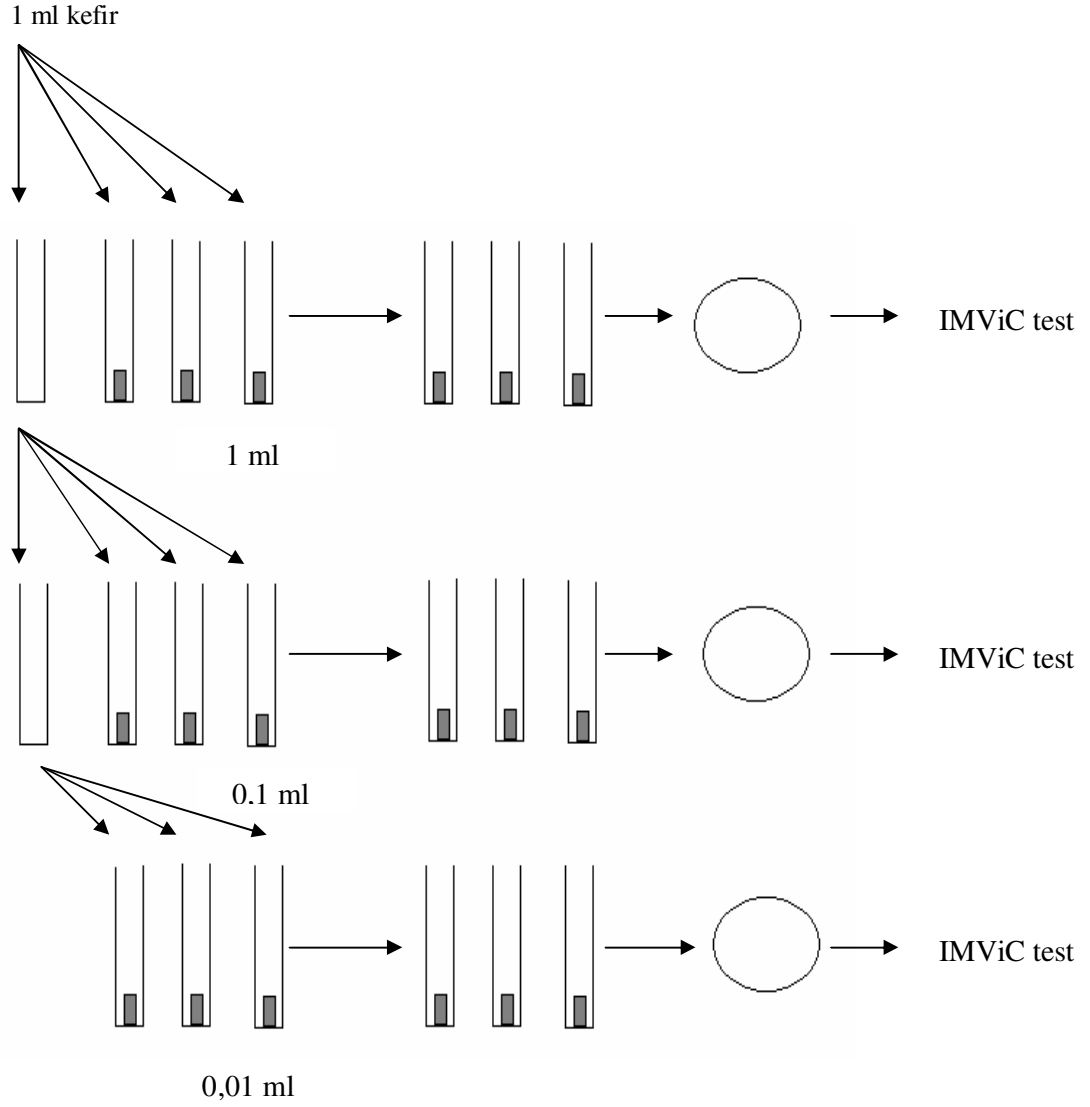
2.2.2.5. Koliform bakteriler, Fekal koliformlar ve *Escherichia coli* İzolasyonu

Koliform bakteriler, fekal koliformlar ve *Escherichia coli* sayısının tespitinde Most Probable Number (En Muhtemel Sayı) tekniği kullanıldı (De Man, 1983). Bunun için kefir örneklerinin her birinden üçer adet 1: 0,1: 0,01: ... ml olacak şekilde alınarak, içerisinde 9: 10: 10: ...ml Lauryl Sulphate Tryptose Broth (LSB-Oxoid CM 451)

bulunan üçlü tüplere ilave edildi ve tüpler 37 °C’de 24–48 saat süreyle inkübe edildi. 24 saat sonunda gaz ve bulanıklık oluşturan tüpler pozitif kabul edilerek, gaz ve bulanıklık oluşturmeyen tüplerin inkübasyonuna 48 saatin sonuna kadar devam edildi. Gaz oluşturan tüpler kayıt edilerek MPN tablosundan koliform bakteri sayısı tespit edildi (Çizelge 2.2.). Gaz ve bulanıklık oluşumu gözlenen ve gözlenmeyen bütün tüplerden *E.coli* Broth’a (EC-Oxoid CM 853) bir öze dolusu inoküle edilerek, 44,5 °C’de 24–48 saat aerob koşullarda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun 24. saatinde gaz ve bulanıklık oluşturan tüpler pozitif olarak değerlendirildi, gaz ve bulanıklık oluşturmeyen tüplerin inkübasyonuna 48 saatin sonuna kadar devam edildi. Gaz oluşturan tüpler kayıt edilerek MPN tablosundan fekal koliform bakteri sayısı tespit edildi. EC Broth’da gaz ve bulanıklık oluşturan tüplerin her birinden Eosin Methylene Blue Agar’a (EMB-Oxoid CM 69) öze ile ekim yapılarak plaklar 37 °C’de 24–48 saat süre ile inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda metalik parlaklık gösteren tipik kolonilere *E.coli* identifikasyonu için IMViC test uygulandı (Şekil 2.1.). Yapılan test sonucunda; Indol (+), Metil Red (+), Voges Proskauer (-) ve sitrat (-) olanlar *E.coli* tip 1 olarak değerlendirildi.

2.2.2.6. Maya ve Küf İzolasyonu

Maya ve küf sayısının belirlenmesi için Mislivec ve ark. (1992)’nin önerdiği yönteme göre Rose Bengal Chloramphenicol Agar (RO-Oxoid CM–549, Chloramphenicol Selective Supplement SR–78) besi yerine damla plak yöntemi ile ekim yapılarak, plaklar aerob koşullarda 25 °C’de 3–5 gün inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda besi yerinde oluşan koloniler üreme özelliklerine göre maya ve küf olarak değerlendirmeye alındı.



LST Broth

37° C'de 24-48 saat

EC Broth

44,5 C'de 24-48 saat

EMB Agar

37° C'de 24-48 saat

Şekil 2.1. MPN tekniği ile *E. coli* düzeyinin belirlenmesi.

Çizelge 2.1. Mikroorganizmaların izolasyonunda kullanılan besi yerleri ve inkübasyon koşulları.

Mikroorganizma Türü	Besi yeri (Kod no)	İnkübasyon Koşulları		
		Sıcaklık (°C)	Süre (saat)	Ortam
Aerob mezofil genel canlı	Tryptone Soya Agar (TSA-Oxoid CM 131)	30	48–72	Aerob
Laktobasiller	MRS Agar (MRS-Oxoid CM 361)	30	48	Anaerob
Enterokoklar	Slanetz-Bartley Agar (SB-Oxoid CM–377)	37	24–48	Aerob
Enterobakteriler	Violet Red Bile Lactose Glucose Agar (VRBG-Oxoid CM 485)	37	24–48	Anaerob
Maya-Küf	Rose Bengal Chloramphenicol Agar (RO-Oxoid CM 549) Chloramphenicol Selective Supplement (Oxoid SR–78)	25	3–5 (gün)	Aerob

Çizelge 2.2. Most Probable Number (MPN) tablosu, üçlü tüp yöntemine göre (1-0,1-0,01 g) (De Man, 1983).

Pozitif değerler			MPN	% 95		% 99	
0	0	0	<0,30				
0	0	1	0,30	0,01	0,95	0,00	1,40
0	1	0	0,30	0,01	1,00	0,00	1,60
0	1	1	0,6	0,12	1,70	0,05	2,50
0	2	0	0,6	0,12	1,70	0,05	2,50
0	3	0	0,9	0,35	3,50	0,18	4,60
1	0	0	0,4	0,02	1,70	0,01	2,50
1	0	1	0,7	0,12	1,70	0,05	2,50
1	0	2	1,1	0,35	3,50	0,18	4,60
1	1	0	0,7	0,13	2,00	0,06	2,70
1	1	1	1,1	0,35	3,50	0,18	4,60
1	2	0	1,1	0,36	3,50	0,19	4,60
1	2	1	1,5	0,45	3,80	0,24	5,20
1	3	0	1,6	0,45	3,80	0,24	5,20
2	0	0	0,9	0,15	3,50	0,07	4,60
2	0	1	1,4	0,36	3,50	0,19	4,60
2	0	2	2,0	0,45	3,80	0,24	5,20
2	1	0	1,5	0,37	3,80	0,20	5,20
2	1	1	2,0	0,45	3,80	0,24	5,20
2	1	2	2,7	0,87	9,40	0,51	14,20
2	2	0	2,1	0,45	4,00	0,24	5,60
2	2	1	2,8	0,87	9,40	0,51	14,20
2	2	2	3,5	0,87	9,40	0,51	14,20
2	3	0	2,9	0,87	9,40	0,51	14,20
2	3	1	3,6	0,87	9,40	0,51	14,20
3	0	0	2,3	0,46	9,40	0,25	14,20
3	0	1	3,8	0,88	10,40	0,52	15,70
3	0	2	6	1,60	18,10	1,00	25,00
3	0	3	10	3,50	36,00	2,00	43,00
3	1	0	4	0,91	18,10	0,53	25,00
3	1	1	7	1,70	18,90	1,10	27,00
3	1	2	12	3,50	36,00	2,10	44,00
3	1	3	16	3,50	38,00	2,50	52,00
3	2	0	9	1,80	36,00	1,20	43,00
3	2	1	15	3,50	38,00	2,20	52,00
3	2	2	21	3,50	40,00	2,50	56,00
3	2	3	29	9,00	99,00	4,60	152,00
3	3	0	20	3,60	99,00	2,60	152,00
3	3	1	50	9,10	198,00	4,70	280,00
3	3	2	110	18,20	405,00	11,40	570,00
3	3	3	>110				

2.2.3. Kimyasal Analizler

Kimyasal analizlerde, kefir örneklerinde protein, titrasyon asitliği, yağ ve kuru madde miktarı analizleri yapıldı.

2.2.3.1. Protein Miktarının Belirlenmesi

Protein miktarının belirlenmesinde tam otomatik protein ve nitrojen ölçüm cihazı Leco FP-528 (USA) kullanıldı (Şekil 2.2.). Analiz edilecek olan kefir örneği tartılarak pipet yardımıyla kapsüllere konuldu ve örnek hazneye yerleştirilerek her bir numune için yaklaşık 3 dakika süren yakma işlemi tamamlandıktan sonra protein değeri cihazın ekranından yüzde değeri olarak okunup kaydedildi.



Şekil 2.2. Protein tayin cihazı (Leco FP-528).

2.2.3.2. Titrasyon Asitliği Ölçümü

Kefir örneklerinden 10 ml alınarak üzerine 1 ml fenolftalein çözeltisi (Merck- Kod No: 107233) ve 0,1 N sodyum hidroksit çözeltisi (Merck-Kod No: 106495) damla damla ilave edilerek 30 saniye süreyle pembe renk sabit kalıncaya kadar titre edildi. Harcanan NaOH çözeltisinin miktarı belirlenerek aşağıdaki formül ile laktik asit cinsinden titre edilebilir asitlik hesaplandı (Anon, 2002).

A= Titre edilebilir asitlik

S= Titrasyonda harcanan 0.1 N NaOH çözeltisi miktarı

m= Numune miktarı

$$A = \frac{S \times 100}{m}$$

2.2.3.3. Yağ Miktarının Belirlenmesi

Kefirde yağ miktarı tayininde Gerber metodu kullanıldı (Anon, 1990). Her numune için bütirometreye yoğunluğu 1,820 olan sülfirik asitten (Merck- Kod No: 100732) 10 ml konduktan sonra üzerine yavaş bir şekilde 11 ml kefir örneği ilave edildi. Bunun üzerine 1 ml izoamil alkol (Merck- Kod No: 100979) eklendi ve 1100 devir/dakika hızla çalışan santrifüjde 5 dakika santrifüj edildi. Daha sonra bütirometreler 65 °C'deki su banyosunda 5 dakika bekletildikten sonra yüzde olarak yağ miktarı belirlendi.

2.2.3.4. Kuru Madde Miktarının Belirlenmesi

Kuru madde miktarının belirlenmesinde nem tayin cihazı Sartorius MA 30 (USA) kullanıldı (Şekil 2.3.). Cihazın içine her bir numune için ayrı alüminyum plaklar yerleştirilerek, bir pipet yardımıyla alınan 3 ml kefir örneği plak üzerine yayıldı.

Daha sonra cihazın kapağı kapatılarak kurutma işleminin tamamlanması beklendi. İşlem tamamlandığında cihaz ekranından analiz edilen kefir örneğinin rutubet miktarı okunarak, bu değerin 100'den çıkarılması sonucu kuru madde miktarı belirlendi.



şekil 2.3. Nem tayin cihazı (Sartorius MA 30).

2.2.4. pH Ölçümü

Kefir örneklerinin pH değeri elektronik pH metre Beckman Zeromatic SS-3 (USA) ile ölçüldü (şekil 2.4.). pH ölçümü öncesinde pH metrenin kontrol solüsyonları ile ayarı yapılarak, prob beher içerisine alınan bir miktar kefire daldırıldı. Ölçüm değeri sabitleninceye kadar (10-20 saniye) beklenerek, göstergeden okunan sonuç pH değeri olarak kaydedildi.



şekil 2.4. pH metre (Beckman Zeromatic SS-3).

2.2.5. İstatistiksel Analizler

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel yönden değerlendirilmesinde SPSS 14.0 paket programı kullanıldı. Kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin karşılaştırılmasında student t-testi uygulandı. Farklılık önemli çıkan gruplarda Tukey testi ile istatistik analiz yapıldı.

3. BULGULAR

Bu çalışmada, Ankara’da marketlerde satışa sunulan 4 farklı firmaya ait 70 kefir, 40 meyveli kefir ve 10 light kefir örneğinden oluşan toplam 120 kefir örneği mikrobiyolojik ve kimyasal yönden analiz edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen, kefir örneklerinin aerob mezofil genel canlı, laktobasiller ve maya-küf yönünden analiz sonuçları Çizelge 3.1.’de verilmiştir. Analiz edilen 120 kefir örneği aerob mezofil genel canlı sayısı yönünden değerlendirildiğinde ortalama değerin 8,68 log kob/ml olduğu, bununla birlikte sade kefir örneklerinde min. 6,14 log kob/ml ile max. 9,80 log kob/ml arasında olduğu ve ortalama değerin 8,80 log kob/ml olduğu, meyveli kefir örneklerinde min. 7,41 log kob/ml ile max. 9,20 log kob/ml arasında değiştiği ve ortalama değerin 8,51 log kob/ml olduğu saptanmıştır. Aerob mezofil genel canlı sayısı light kefir örneklerinde min. 8,00 log kob/ml; max. 8,98 log kob/ml ve ortalama 8,53 log kob/ml olarak tespit edilmiştir. Kefir, meyveli kefir ve light kefir örneklerinin mikrobiyolojik analizi sonucunda elde edilen değerler arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$).

Analiz edilen 120 kefir örneğinin ortalama laktobasil düzeyi 8,33 log kob/ml olup, kefir örneklerinde laktobasil sayısının min. 6,07 log kob/ml ile max. 9,68 log kob/ml arasında olduğu ve ortalama değerin 8,36 log kob/ml olduğu belirlenmiştir. Laktobasil sayısı meyveli kefir örneklerinde min. 7,20 log kob/ml ve max. 9,14 log kob/ml ve ortalama 8,32 log kob/ml olarak tespit edilmiştir. Light kefir örneklerinde laktobasil sayısı min. 7,53 log kob/ml ve max. 8,83 log kob/ml, ortalama 8,21 log kob/ml olarak saptanmıştır. Analiz sonucunda elde edilen değerlerin istatistiksel açıdan farklı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

Çalışma kapsamında kefir örnekleri maya-küf yönünden analiz edilmiş olup, genel değerlendirmede kefir örneklerinin % 75’inde (90/120) maya düzeyinin saptama sınırının ($<2,0 \times 10^1$ kob/ml) altında olduğu tespit edildiğinden analiz

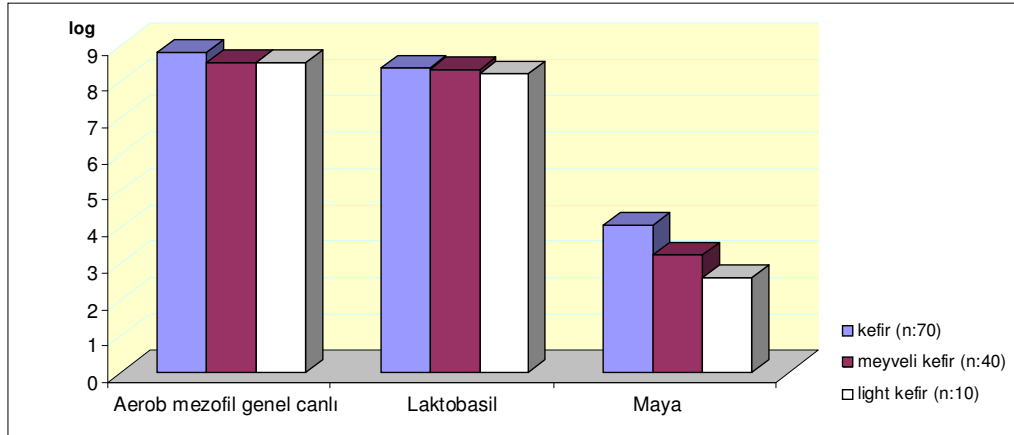
sonuçları istatistiksel açıdan değerlendirilmemiştir. Mikrobiyolojik yönden analiz edilen kefir örneklerinin % 25'inde (30/120) maya ürediği ve ortalama maya düzeyinin 3,92 log kob/ml olduğu belirlenmiştir. Analiz edilen sade kefir örneklerinin % 37,1'inde (26/70) maya üremesi saptanmış olup, maya sayısının min. 2,30 log kob/ml; max. 5,62 log kob/ml olduğu ve ortalama değer 4,05 log kob/ml olduğu tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında incelenen meyveli kefir örneklerinin % 7,5'inde (3/40) maya ürediği tespit edilmiş olup, maya sayısının min. 3,00 log kob/ml; max. 3,50 log kob/ml olduğu ve ortalama değer 3,23 log kob/ml olduğu belirlenmiştir. Analiz edilen light kefir örneklerinin %10'unda 2,60 log kob/ml düzeyinde maya tespit edilmiştir.

Çizelge 3.1. Ankara'da marketlerde satılan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin aerob mezofil genel canlı, laktobasil ve maya değerleri (log₁₀).

Örnek türü	n	Parametre	Amgc ^a	Laktobasil ^a	Maya
Kefir	70	x	8,80	8,36	4,05 (26) ^b
		Min.	6,14	6,07	2,30
		Max.	9,80	9,68	5,62
Meyveli Kefir	40	x	8,51	8,32	3,23 (3) ^b
		Min.	7,41	7,20	3,00
		Max.	9,20	9,14	3,50
Light Kefir	10	x	8,53	8,21	2,60 (1) ^b
		Min.	8,00	7,53	2,60
		Max.	8,98	8,83	2,60
Toplam	120	x	8,68	8,33	3,92

^a: p>0.05

b: pozitif örnek sayısı



Şekil 3.1. Ankara’da marketlerde satılan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin aerob mezofil genel canlı, laktobasil ve maya değerleri (\log_{10}).

Çalışmada ayrıca kefir örneklerinin enterokok, enterobakteriler, koliform, fekal koliform ve *E. coli* ile kontaminasyon düzeyleri belirlenerek Çizelge 3.2.’de verilmiştir. Mikrobiyolojik yönden analiz edilen kefir örneklerinin genel değerlendirmesinde; enterobakteriler ile kontaminasyon düzeyi % 11,6 (14/120), enterokoklar ile kontaminasyon düzeyi ise % 15 (18/120) olarak belirlenmiştir. Kefir örneklerinin % 20’sinden (14/70), enterobakteri izole edilmiş olup, meyveli ve light kefir örneklerinde enterobakteri düzeyinin saptama sınırının ($<1,0 \times 10^1$ kob/ml) altında olduğu tespit edilmiştir. Kefir örneklerinde min. 1,30 log kob/ml ile max. 2,90 log kob/ml ve ortalama 2,09 log kob/ml düzeyinde enterobakteri izole edilmiştir.

Analiz edilen kefir örneklerinin enterokoklar ile kontaminasyon düzeyi min. 1,00 log kob/ml ile max. 8,47 log kob/ml arasında olup, ortalama değer 2,48 log kob/ml olarak tespit edilmiştir. Kefir, meyveli kefir ve light kefir örneklerinden sırası ile % 18,57 (13/70); % 7,5 (3/40) ve % 20 (2/10) oranında enterokok izole edilmiştir. Kefir, meyveli kefir ve light kefir örneklerinde ortalama enterokok düzeyi sırası ile 2,10; 2,30; 5,24 log kob/ml olarak saptanmıştır.

Kefir örneklerinin genel değerlendirmesinde koliform türleri ile kontaminasyon düzeyi % 32,5 (39/120) olarak saptanmış olup, ortalama değer 11,58 MPN/ml düzeyindedir. Analiz edilen sade kefirlerin % 35,7’si (25/70), meyveli

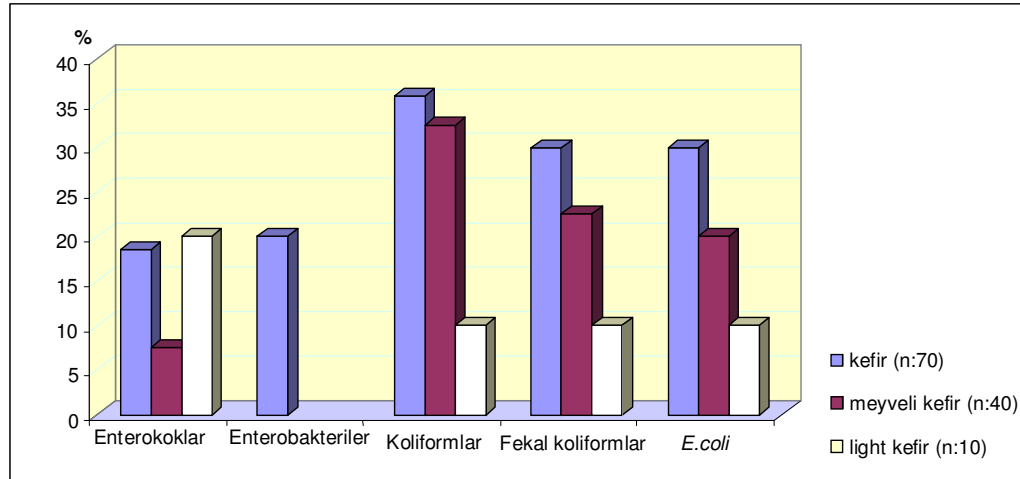
kefirlerin % 32,5'i (13/40) ve light kefirlerin % 10'unun (1/10) koliform bakteri türleri ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Koliform bakteriler ile kontamine olduğu tespit edilen 25 sade kefir örneğinin koliform sayısının min. 0,40 MPN /ml ve max. 90 MPN /ml olduğu, ortalama değerin ise 17,47 MPN/ml olduğu saptanmıştır. Meyveli kefir örneklerinde ise kontaminasyon düzeyinin min. 0,40 MPN/ml ile max. 2,30 MPN/ml olduğu, ortalama değerin 1,07 MPN/ml olduğu belirlenmiştir. Light kefir örneklerinde ortalama koliform bakteri düzeyi de 0,90 MPN/ml olarak tespit edilmiştir.

Çalışmada fekal koliformlar yönünden yapılan değerlendirmede tüm örneklerin % 25,8 (31/120) oranında kontamine olduğu saptanmıştır. Kefirlerin % 30'u (21/70), meyveli kefirlerin % 22,5'i (9/40) ve light kefir örneklerinin %10'unun (1/10) fekal koliformlar ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Fekal koliformlar ile kontamine olduğu tespit edilen 21 sade kefir örneğinin kontaminasyon düzeyinin min. 0,40 MPN/ml ile max. 40 MPN/ml arasında olduğu ve ortalama değerin 9,42 MPN/ml olduğu tespit edilmiştir. Meyveli kefir örneklerinde kontaminasyon düzeyi min. 0,40 MPN/ml; max. 2,30 MPN/ml ve ortalama 1,17 MPN/ml olarak belirlenmiştir. Light kefir örneklerinde fekal koliform türleri ile kontaminasyon düzeyi ise ortalama 0,90 MPN/ml olarak saptanmıştır.

Analiz edilen 120 kefir örneğinin % 25'inin *E. coli* yönünden (30/120) pozitif olduğu belirlenmiştir. Kefir örneklerinin min. 0,40 MPN/ml; max. 40 MPN/ml ve ortalama 9,42 MPN/ml düzeyinde; meyveli kefir örneklerinin min. 0,40 MPN/ml; max. 2,30 MPN/ml ve ortalama 1,21 MPN/ml düzeyinde *E. coli* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. *E. coli* ile kontamine olduğu belirlenen light kefir örneklerinin kontaminasyon düzeyi ise ortalama 0,90 MPN/ml olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 3.2. Ankara’da marketlerde satılan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin bazı mikroorganizmalar yönünden kontaminasyon düzeyleri.

Örnek	Enterobakteriler log	Enterokoklar log	Koliform MPN/ml	Fekal koliform MPN/ml	<i>E. coli</i> MPN/ml
Kefir (70)					
Poz. örnek (%)	14 (20)	13 (18,57)	25 (35,7)	21 (30)	21 (30)
x	2,09	2,10	17,47	9,42	9,42
Min.	1,30	1,00	0,40	0,40	0,40
Max.	2,90	3,04	90	40	40
Meyv. kefir (40)					
Poz. örnek (%)	-	3 (7,5)	13 (32,5)	9 (22,5)	8 (20)
x	-	2,30	1,07	1,17	1,21
Min.	-	2,30	0,40	0,40	0,40
Max.	-	2,30	2,30	2,30	2,30
Light kefir (10)					
Poz. örnek (%)	-	2 (20)	1 (10)	1 (10)	1 (10)
x	-	5,24	0,90	0,90	0,90
Min.	-	2,00	0,90	0,90	0,90
Max.	-	8,47	0,90	0,90	0,90
Toplam					
Poz. örnek (%)	14 (11,6)	18 (15)	39 (32,5)	31 (25,8)	30 (25)
x	2,09	2,48	11,58	6,75	6,95
Min.	1,30	1,00	0,40	0,40	0,40
Max.	2,90	8,47	90	40	40



Şekil 3.2. Ankara’da marketlerde satılan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin bazı mikroorganizmalar yönünden kontaminasyon oranları (%).

Çalışma kapsamında analiz edilen 120 kefir örneğinin kimyasal bulguları ve istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 3.3.'de verilmiştir. Kefir örnekleri genel olarak değerlendirildiğinde ortalama kuru madde miktarı 13,29 g/100ml olarak tespit edilmiştir. Kefir çeşitleri yönünden değerlendirildiğinde kefir, meyveli kefir ve light kefir örneklerinde ortalama kuru madde miktarı sırasıyla 11,20; 17,63 ve 10,50 g/100ml olarak saptanmıştır. Kefir örneklerinin kuru madde miktarları arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.001$).

Çalışma kapsamında incelenen kefir, meyveli kefir ve light kefir örneklerinin ortalama yağ miktarları sırasıyla 2,83; 2,94; 1,04 g/100ml olarak saptanmıştır. İstatistiksel açıdan kefir ve meyveli kefir örneklerinin yağ içeriğinin benzer olduğu belirlenmiştir.

Çalışma sonunda ortalama protein miktarı kefir örneklerinde 3,71; meyveli kefir örneklerinde 3,18 ve light kefir örneklerinde 3,56 g/100ml olarak belirlenmiştir. Meyveli kefir örnekleri protein miktarı yönünden kefir ve light kefir örneklerinden farklı bulunmuştur ($p<0.001$).

Kefir örneklerinin ortalama asitlik değeri kefir, meyveli kefir ve light kefir örnekleri için sırasıyla laktik asit cinsinden % 0,78; % 0,82; % 0,85 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar arasındaki fark istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde meyveli kefir örneklerinin kefir ve light kefir ile benzerlik gösterdiği sonucuna varılmıştır ($p<0.01$).

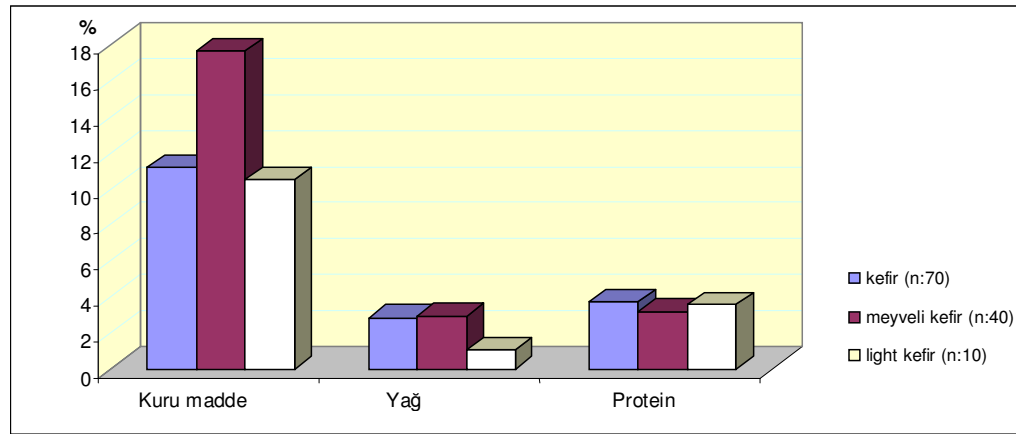
Çalışma kapsamında incelenen kefir, meyveli kefir ve light kefir örneklerinin ortalama pH değerleri sırasıyla 4,26; 4,13 ve 4,17 olarak saptanmıştır. İstatistiksel açıdan kefir örneklerinin pH değerinin meyveli ve light kefir örneklerinden farklılık gösterdiği saptanmıştır ($p<0.001$).

Çizelge 3.3. Ankara’da marketlerde satılan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin kimyasal değerleri.

Örnek	n	Parametre	K.M ^{**} (%)	Yağ ^{**} (%)	Protein ^{**} (%)	Asitlik [*] (%)	pH ^{**}
Kefir	70	x	11,20 a	2,83 a	3,71 a	0,78 a	4,26 a
		Min.	8,16	1,50	2,64	0,60	4,10
		Max.	12,72	3,60	4,61	0,92	4,50
Meyveli Kefir	40	x	17,63 b	2,94 a	3,18 b	0,82 ab	4,13 b
		Min.	16,53	2,50	2,70	0,72	4,00
		Max.	19,52	3,30	3,85	0,93	4,30
Light Kefir	10	x	10,50 c	1,04 b	3,56 a	0,85 b	4,17 b
		Min.	10,11	0,80	3,25	0,80	4,10
		Max.	11,05	1,30	4,47	0,92	4,20
Toplam	120	x	13,29	2,72	3,52	0,80	4,21

Not: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan kefir örnekleri arasındaki fark önemlidir.

*: p<0.01 **: p<0.001 K.M: Kuru madde



Şekil 3.3. Ankara’da marketlerde satılan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerin kuru madde, yağ ve protein miktarları (%).

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada Ankara'da marketlerde satışı sunulan kefir, meyveli kefir ve light kefirlerden alınan toplam 120 kefir örneği mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri yönünden analiz edilmiştir.

Çalışma kapsamında yapılan mikrobiyolojik analizler neticesinde aerob mezofil genel canlı sayısı; kefir örneklerinde ortalama 8,80 log kob/ml, meyveli kefir örneklerinde 8,51 log kob/ml ve light kefir örneklerinde 8,53 log kob/ml düzeyinde olduğu saptanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde kefirin toplam aerob mezofil genel canlı düzeyinin en az 10^7 kob/ml düzeyinde olması gerektiği belirtilmiştir. Bu çalışmada elde edilen veriler değerlendirildiğinde tüm kefir örneklerinin aerob mezofil genel canlı sayısı yönünden % 96,6'sının (116/120) Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'ne uygun olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar kefir çeşitleri yönünden değerlendirildiğinde kefirlerin % 94,3'ü (66/70), meyveli ve light kefir çeşitlerinin ise tamamı Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde kefir için belirtilen aerob mezofil genel canlı sayısı kriterlerine uygunluk göstermektedir.

Fontan ve ark. (2006)'nın starter kültür kullanarak inek sütünden elde ettikleri kefirde fermentasyon süresince ortaya çıkan bazı mikrobiyal ve biyokimyasal değişiklikleri inceledikleri bir çalışmada; kefirde toplam aerob mezofil genel canlı sayısını 8,0 log kob/ml olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada bulunan değer çalışmamızdan elde edilen veriler ile benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte Polonya'da yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Çalışma perakende satışı sunulan kefirlerden alınan 61 adet örneğin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesine yönelik olarak yapılmış ve aerob mezofil genel canlı sayısı 10^7 - 10^9 kob/ml arasında değişen düzeylerde saptanmıştır (Molska ve ark., 2003).

Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde laktobasiller için herhangi bir yasal limit bulunmamasına rağmen, yapılan bu çalışmada kefir, meyveli kefir ve

light kefir örneklerinin laktobasil düzeyinin sırasıyla ortalama 8,36; 8,32; 8,21 log kob/ml olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda farklı tipte kefir örnekleri incelenmesine rağmen laktobasil düzeyi bakımından kefir çeşitleri arasında farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir.

Laktobasillerin ortalama değeri Mainville ve ark. (2001)'nin yaptıkları çalışmada 8,60 log kob/ml; Ninane ve ark. (2005)'nin çalışmasında $1,4 \times 10^8$ kob/ml; Irigoyen ve ark. (2005)'nin çalışmasında 10^8 kob/ml; ve TÜBİTAK tarafından yapılan bir çalışmada $1,1 \times 10^8$ kob/ml düzeyinde saptanmıştır. Çalışmamızda elde edilen bulgulardan farklı olarak Güzel-Seydim ve ark. (2005)'nin yaptığı çalışmada ortalama laktobasil sayısı 6,26 log kob/ml; Fontan ve ark. (2006)'nin çalışmasında ise ortalama 7,2 log kob/ml olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar arasındaki farklılıklar kefir üretiminde kullanılan starter kültür bileşiminin farklı olmasından kaynaklanabileceği gibi, üretim tekniği ve inkübasyon sıcaklığı farklılığına da bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda kefir örnekleri maya ve küf yönünden analiz edilmiş olup, kefir örneklerinin % 25'inden (30/120) maya izole edilmiş ve ortalama değerin 3,92 log kob/ml olduğu tespit edilmiştir. Maya düzeyi kefir çeşitleri bakımından değerlendirildiğinde kefir, meyveli kefir ve light kefir örneklerinde sırasıyla ortalama 4,05; 3,23 ve 2,60 log kob/ml olarak saptanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde kefirin en az 10^4 kob/ml düzeyinde maya içermesi gerektiği belirtilmektedir. Çalışmamızda kefir örneklerinin % 22,8'inin (16/70) Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde maya düzeyi bakımından belirtilen değere uygun olduğu, fakat meyveli ve light kefir çeşitlerinin standartlara uygun olmadığı belirlenmiştir.

Fontan ve ark. (2006) inceledikleri kefir örneklerinde maya sayısını 3,00 log kob/ml olarak saptamışlardır. Withuhn ve ark. (2005) ise yaptıkları çalışma sonucunda kefirde maya izole edemediklerini belirtmişlerdir. Kefirde maya miktarının düşük düzeylerde bulunması veya maya izole edilememesi, kefirin bileşiminde bulunan mayaların fermentasyonu sonucu kefirde gazlı ve köpüklü bir

yapının oluşması ve bunun tüketiciler tarafından tercih edilmemesi nedeniyle ticari kefir üretiminde tüketici memnuniyetini sağlamak amacıyla maya içermeyen kültürlerin kullanılmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bununla birlikte çalışmamızdan farklı olarak maya düzeyini; Mainville ve ark. (2001) 5,09 log kob/ml; Ninane ve ark. (2005) $1,1 \times 10^7$ kob/ml; Irigoyen ve ark. (2005) 10^5 kob/ml; Güzel-Seydim ve ark. (2005) 6,16 log kob/ml düzeyinde saptamışlardır.

Kefir bileşiminin saptanması ve starter kültür kullanılarak üretilen kefirin mikrobiyal değişiminin izlenmesi amacı ile TÜBİTAK tarafından yapılan bir çalışmada ise, kefir tanesi kullanılarak üretilen kefir örneklerinin maya düzeyi $5,9 \times 10^3$ kob/ml olarak tespit edilmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda kefirde maya sayısı yönünden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen veriler doğrultusunda; kefir üretim metodu, kefir tanesinin orijini, kullanılan starter kültürün çeşidi ve identifikasyon için kullanılan yöntemlerin kefirin mikrobiyal kompozisyonu üzerine etkili faktörler olabileceği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda 120 kefir örneğinin % 15'inin enterokoklar, % 11,6'sının enterobakteriler, % 32,5'inin koliformlar ve % 25,8'inin fekal koliformlar ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Kefir örneklerinin % 25'i ise *E. coli* yönünden pozitif bulunmuş, pozitif örneklerin kontaminasyon düzeyinin 0,4-40 MPN/ml (ortalama 6,95 MPN/ml) arasında olduğu saptanmıştır.

Polonya'da yapılan bir çalışmada perakende satışa sunulan kefirlerden alınan 61 adet örnekte hijyen indeksi mikroorganizmalardan olan koliform bakterilere örneklerin sadece % 3'ünde rastlanmıştır (Molska ve ark., 2003).

Çalışma sonucunda incelenen 120 adet kefir örneğinin ortalama pH değeri 4,21 olarak saptanmıştır. Kefir, meyveli kefir ve light kefir örneklerinin ortalama pH

değerleri sırasıyla 4,26; 4,13 ve 4,17 olarak tespit edilmiştir. Irigoyen ve ark. (2005) süte % 1 ve % 5 oranında kefir tanesi ilave ederek yaptıkları çalışmalarında pH değerini sırasıyla 4,50 ve 4,40 olarak saptamışlardır. Yılmaz ve ark. (2006)'nın çalışmasında kefirin pH değeri 5,23 olarak tespit edilmiştir. Güzel-Seydim ve ark. (2005)'nin çalışmasında ise 4,55 olarak belirlenmiştir. Kefir yapımında kullanılan sütün kalitesi, üretimde kullanılan starter kültür, inkübasyon süresi ve sıcaklığının farklı olması ve kefirin depolama sıcaklığı ve süresinin pH değerinde ortaya çıkan farklılıklarda etkili olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada ortalama kuru madde miktarı kefir örneklerinde 11,20 g/100 ml; meyveli kefirde 17,63 g/100 ml ve light kefirde 10,50 g/100 ml olarak saptanmıştır. Kuru madde miktarının meyveli kefir örneklerinde diğerlerine göre daha yüksek bulunmasının meyve püresi kullanımına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Wszolek ve ark. (2001) inek sütünden yapılan kefirde kuru madde miktarını 11,67 g/100 ml; Irigoyen ve ark. (2005) 11,70 g/100 ml olarak belirlemişlerdir. Elde edilen sonuçlar bu çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Kefir üretim tekniği, kullanılan süt çeşidi, üretim sırasında uygulanan parametrelerdeki farklılıkların kefirin kuru madde miktarını etkileyebileceği düşünülmektedir.

Nitekim çalışmadan farklı olarak, Ersoy ve Uysal (2002) yaptıkları çalışmada, kefir tanesi kullanarak ürettikleri kefirde kuru madde miktarını ortalama % 8,08; starter kültür kullanarak ürettikleri kefirde ortalama % 8,25 olarak belirlemişlerdir. Bu durum kefir üretiminde kefir tanesi ve starter kültür kullanımına bağlı olarak kefirin bileşiminde farklılık olabileceğini göstermektedir.

Çalışmada kefir, meyveli kefir ve light kefir örneklerinde ortalama yağ miktarı sırasıyla % 2,83; % 2,93; % 1,04 olarak saptanmıştır. Wszolek ve ark. (2001)'nin yaptıkları çalışmada inek sütünden yapılan kefirlerde yağ miktarını 3,08 g/100 ml; Irigoyen ve ark. (2005)'nin süte % 1 ve % 5 oranında kefir tanesi ilave ederek yaptıkları çalışmada yağ miktarı sırasıyla 3,51 g/100 ml ve 3,60 g/100 ml olarak tespit edilmiştir. TÜBİTAK tarafından yapılan çalışmada kefir tanesi kullanılarak üretilen kefirde yağ miktarı 3,20 g/100 ml ve starter kültür kullanılarak

üretilen kefirde 3,10 g/100 ml olarak belirlenmiştir. Sonuçlar arasında ortaya çıkan farklılıkların üretimde kullanılan sütün standardizasyon farklılığına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada kefir örneklerinin kimyasal yönden analizi sonucunda ortalama protein miktarı 3,71 g/100 ml; meyveli kefir örneklerinin 3,18 g/100 ml ve light kefir örneklerinin 3,56 g/100 ml olarak saptanmıştır. Meyveli kefirlerde protein miktarının diğer kefir çeşitlerine göre farklı bulunmasının üretimde meyve püresi kullanımından kaynaklanan bir sonuç olabileceği düşünülmektedir. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde kefirin protein miktarının en az % 2,8 olması istenmektedir. Çalışma kapsamında incelenen kefirlerin % 98,6'sının (69/70), meyveli kefirlerin % 95'inin (38/40) ve light kefirlerin tamamının protein miktarı yönünden Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'ne uygun olduğu belirlenmiştir. Çalışmaya benzer şekilde Wszolek ve ark. (2001) çalışmalarında kefirin protein miktarını ortalama 3,17 g/100 ml olarak saptamışlardır. TÜBİTAK tarafından yapılan bir çalışmada kefir tanesi ile üretilen kefir örneklerinde protein miktarı 3,0 g/100 ml; starter kültür kullanılarak üretilen kefirde 3,13 g/100 ml olarak tespit edilmiştir.

Bununla birlikte, Ersoy ve Uysal (2002) çalışmalarında; tane ile üretilen kefirde protein miktarının ortalama 2,34 g/100 ml; starter kültür ile üretilen kefirde ise 2,26 g/100 ml olarak belirlemişlerdir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda kefir tanesi veya starter kültür kullanımı sonucunda protein miktarında oluşan farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığını belirtmişlerdir.

Çalışmada laktik asit cinsinden ortalama asitlik değeri kefir, meyveli kefir ve light kefir örneklerinde sırasıyla % 0,78; % 0,82 ve 0,85 olarak saptanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde kefirin asitlik değerinin en az % 0,6 olması gerektiği belirtilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda kefirlerin asitlik değerinin Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde belirtilen değere uygun olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamıza paralel olarak TÜBİTAK tarafından yapılan çalışmada starter kültür kullanılarak üretilen kefirde asitlik % 0,71 olarak belirlenirken, çalışmamızdan farklı olarak kefir tanesi ile üretilen kefirde

asitlik % 1,12 olarak saptanmıştır. Çalışmada elde edilen değerlerden farklı olarak; Yılmaz ve ark. (2006) kefirde asitlik değerini % 0,25 olarak daha düşük düzeyde saptamışlardır. Yılmaz ve ark. (2006)'nın yaptığı çalışmada; aromalı kefir içeceklerinin muhafaza süresince pH değerinde azalma gözlenirken, asitlik miktarının arttığı belirlenmiştir. Çalışmamızda incelenen meyveli kefir örneklerinin asitlik değerinin daha yüksek olması, kefire eklenen meyvelerin asitliği arttırmamasından kaynaklanabileceği gibi, üretimde kullanılan starter kültür tipi ve miktarı, inkübasyon sıcaklığı ve süresi gibi faktörlerin de etkili olabileceği düşünülmektedir.

Kefir tanesi ve kefirin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri üzerine çalışmalar bulunmasına karşın, literatür taramalarında özellikle meyveli ve light kefirin özelliklerine yönelik olarak yapılmış çalışmalara rastlanmadığından çalışmamızda elde edilen veriler Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde kefir için belirtilen kriterlere göre değerlendirilmiştir.

Bu tez çalışması sonucunda elde edilen mikrobiyolojik analiz sonuçları Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'ne göre değerlendirildiğinde; kefirlerin % 94,3'ünün, meyveli ve light kefirlerin tamamının aerob mezofil genel canlı düzeyi bakımından, kefirlerin % 22,8'inin ise maya düzeyi bakımından istenen kriterlere uygun olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan kimyasal analiz sonuçlarına göre kefirlerin % 98,6'sının, meyveli kefirlerin % 95'inin ve light kefirlerin tamamının protein miktarı yönünden ve incelenen 120 kefirin asitlik değeri yönünden Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olduğu tespit edilmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Ankara'da marketlerde satışa sunulan kefir örneklerinin farklı kalitelere sahip olduğu ve kefirlerin bir bölümünün hijyen indikatörü mikroorganizmalar ile kontamine olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte incelenen kefir örneklerinin önemli bir kısmında maya düzeyinin Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde belirtilen değerden daha düşük düzeylerde olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları; Türk Gıda Kodeksi'nde kefir için belirtilen kriterlere uygun üretim yapılmadığını, bazı işletmelerin hijyenik kalitesinin iyi olmadığını ve işletmelerde standardizasyonun sağlanmaması nedeniyle mikrobiyolojik ve kimyasal yönden farklı kalitelere sahip kefirlerin üretildiğini göstermektedir.

Kefirin tüketiciye sağlıklı, güvenli ve kaliteli bir şekilde ulaşması için; üretimden tüketime kadar geçen sürede uygun koşullarda muhafaza edilmesi ve satış yerlerine dağıtımda soğuk zincirin kırılmamasına dikkat edilerek uygun şekilde satışa sunulması için gerekli tedbirler alınmalıdır. Bununla birlikte halk sağlığının korunmasına yönelik olarak; işletmelerde kefir üretimi, paketlenmesi ve depolanması sırasında asgari hijyenik koşullar ile birlikte özellikle HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points), GMP (Good Manufacture Practice) ve GHP (Good Hygiene Practice) sistemlerinin uygulanması sağlanmalıdır.

ÖZET

Kefirin Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada Ankara'da marketlerden alınan 70 kefir, 40 meyveli kefir ve 10 light kefirden oluşan toplam 120 kefir örneği mikrobiyolojik ve kimyasal yönden analiz edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefirlerin aerob mezofil genel canlı sayısı ortalama 8,68 log kob/ml, laktobasil düzeyi 8,33 log kob/ml ve maya düzeyi 3,92 log kob/ml olarak tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik yönden yapılan analiz sonuçlarına bakıldığında kefirlerin % 94,3'ünün Amgc ve % 22,8'inin maya düzeyi yönünden Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'ne uygun olduğu, meyveli ve light kefirlerin ise tamamının Amgc düzeyi bakımından uygun, maya düzeyi bakımından uygun olmadığı belirlenmiştir.

Kimyasal analiz sonuçlarına göre; kefirlerin %98,6'sının, meyveli kefirlerin % 95'inin ve light kefirlerin tamamının protein miktarı, tüm kefirlerin de asitlik değeri yönünden TGK Fermente Sütler Tebliği'ne uygun olduğu belirlenmiştir.

Kefir örnekleri hijyen indikatörü mikroorganizmalar yönünden de incelenmiş olup, % 15'inin enterokoklar, % 11,6'sının enterobakteriler, % 32,5'inin koliform türleri ve % 25,8'inin fekal koliformlar ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kefir örneklerinin % 25'i (30/120) *E. coli* yönünden pozitif bulunmuş olup, pozitif örneklerin kontaminasyon düzeyinin 0,4-40 MPN/ml (ortalama 6,95 MPN/ml) arasında olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma kapsamında incelenen kefirlerin farklı kalitelere sahip olduğu, bununla birlikte kefirlerin bir bölümünün hijyen indikatörü mikroorganizmalar ile kontamine olduğu saptanmıştır. Bu nedenle, kefir üretimi, paketlenmesi ve depolanması sırasında asgari hijyenik koşulların sağlanması ve kefir üretiminden tüketime kadar geçen sürede uygun koşullarda muhafaza edilmesi önerilmektedir.

Anahtar Sözcükler: Kefir, Kimyasal özellikler, Mikrobiyolojik özellikler

SUMMARY

Determination of Some Microbiological and Chemical Properties of Kefir

In this study a total of 120 kefir samples purchased from supermarkets in Ankara including 70 kefir, 40 flavoured kefir and 10 light kefir samples were analysed for some microbiologic and chemical properties.

According to this study findings, aerob mesophil total viable counts, lactobacilli and yeast counts were determined as a means of 8,68 log cfu/ml, 8,33 log cfu/ml and 3,92 log cfu/ml with respectively. As a result of microbiologic analysis the amount of aerob mesophil total viable count of 94,3 % kefir and the amount of yeast of 22,8 % kefir appropriate to the Turkish Food Codex. All of the flavoured and light kefir samples were found to be appropriate for aerob mesophil bacteria, but don't appropriate for yeast amount to the Turkish Food Codex.

As a result of chemical analysis; 98,6 % of kefir samples, 95 % of flavoured kefir samples and all of the light kefir samples protein amount and all kefir samples acidity amount were found to be appropriate to the Turkish Food Codex.

Kefir samples were also analysed for hygiene index microorganisms and the result of microbiological analyses showed that 15 % of kefir samples contaminated with enterococcus, 11,6 % with enterobacteriaceae, 32,5 % with coliform bacteria species and 25,8 % with fecal coliforms. Also 25 % (30/120) of kefir samples were found to be *E. coli* positive and the positive samples had a mean of 6,95 MPN/ml.

As a conclusion, the analysis results showed that kefir samples have different qualities and some kefir samples contaminated with hygiene index microorganisms. For this reason, it was suggested that during kefir production, packing and storing hygienic conditions must be applied and kefir should be stored in appropriate conditions.

Key Words: Chemical properties, Kefir, Microbiological properties

KAYNAKLAR

- ALM, L. (1982a). Effect of fermentation on L(+) and D(-) lactic acid in milk. *J. Dairy Sci.*, **65**: 515-520.
- ALM, L. (1982b). Effect of fermentation on proteins of Swedish fermented milk products. *J. Dairy Sci.*, **65**: 1696-1704.
- ALTINAYAR, A. (1994). Geleneksel fermente st rnlerimizin raf mrlerini arttırma yolları, Seminer, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, St Teknolojisi Blm., 25-34.
- ANGULO, L., LOPEZ, E., LEMA, C. (1993). Microflora present in kefir grains of the Galician region (North-West of Spain). *J. Dairy Res.*, **60**: 263-267.
- ANON (1990). Süt Yağ Tayini- Gerber Metodu, TS 8189, TSE, Ankara.
- ANON (2001a). FAO/WHO 2001. CODEX Standard for Fermented Milks #243. Erişim: [http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.jsp]. Erişim tarihi: 28. Ağustos. 2006.
- ANON (2001b). Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği. Tebliğ No: 2001/21. Resmi Gazete, 3 Eylül 2001, Sayı:24512.
- ANON (2002). Çiğ İnek Sütü Standardı, TS 1018, TSE, Ankara.
- ANON (2004). Kefir bileşiminin saptanması ve starter kültür kullanılarak üretilen kefirin mikrobiyal değişiminin izlenmesi. TÜBİTAK-MAM GE. s.: 1-36.
- ANSELMO, R.J., VIORA, S.S., LAUSADA, L.I. (2001). Effect of kefir bactericide on *Salmonella* spp. *Inf. Tec.*, **12**: 91-95.
- AYDAR, K. (1994). Geleneksel fermente süt ürünlerimizin teknolojileri ve raf ömürleri, Seminer, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü., 29-38.
- BESHKOVA, D.M., SIMOVA, E.D., SIMOV, Z.I., FRENGOVA, G.I., SPASOV, Z.N. (2002). Pure cultures for making kefir. *Food Microbiol.*, **19**: 537-544.
- BESHKOVA, D.M., SIMOVA, E.D., FRENGOVA, G. I., SIMOV, Z.I., DIMITROV, Z.H.P. (2003). Production of volatile aroma compounds by kefir starter cultures. *Int. Dairy J.*, **13**: 529-535.
- AğINDI, ., TLEş, S. (2003). Beslenme ve sağlık açısından kefirin nemi. *St Endstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu*, 22-23 Mayıs, İzmir., 371-374.
- CHEIRSILP, B., SHIMIZU, H., SHIOYA, S. (2003). Enhanced kefir production by mixed culture of *Lactobacillus kefiranofaciens* and *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biotechnol.*, **100**: 43-53.

- COLLINS, E.B., ARAMAKI, K. (1980). Production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.*, **63** (3):353-357.
- DE MAN, J.C., ROGOSA, M., SHARPE, M.E (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* **23**: 130-135.
- DE MAN, J.C. (1983). Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. In: Anon (1984). Microbiology General Guidance for Enumeration of Presumptive *E.coli*- Most probable technique. ISO 7251.
- ERSOY, M., UYSAL, H. (2002). Süttozu, peyniraltı suyu tozu ve yayıkaltı karışımları ile üretilen kefirlerin özellikleri üzerine bir araştırma. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **39** (3): 64-71.
- FARNWORTH, E.R. (2005). Kefir- a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods.*, **2**(1): 1-17.
- FONTAN, M.C.G., MARTINEZ, S., FRANCO, I., CARBALLO, J. (2006). Microbiological and chemical changes during the manufacture of kefir made from cow's milk, using a commercial starter culture. *Int. Dairy J.*, **16**: 762-767.
- GARROTE, G.L., ABRAHAM, A.G., De ANTONI, G.L. (1997). Preservation of kefir grains, a comparative study. *Lebensm.-Wiss.-Technol.*, **30**: 77-84.
- GARROTE, G.L., ABRAHAM, A.G., De ANTONI, G.L. (1998). Characteristics of kefir prepared with different grain: milk ratios. *J. Dairy Res.*, **65**: 149-154.
- GARROTE, G.L., ABRAHAM, A.G., De ANTONI, G.L. (2001). Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *J. Dairy Res.*, **68**: 639- 652.
- GÜLMEZ, M., GÜVEN, A. (2003a). Note: Behaviour of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes 4b* and *Yersinia enterocolitica O3* in pasteurised and non-pasteurised kefir fermented for one or two days. *Food Sci. Tech. Int.*, **9** (5): 365-369.
- GÜLMEZ, M., GÜVEN, A. (2003b). Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes 4b* and *Yersinia enterocolitica O3* in ayran and modified kefir as pre- and postfermentation contaminant. *Vet. Med. – Czech.*, **48** (5): 126-132.
- GÜZEL-SEYDİM, Z.B., SEYDİM, A.C., GREENE, A.K., BODINE, A.B. (2000a). Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. *Journal of Food Composition and Analysis.*, **13**: 35-43.
- GÜZEL-SEYDİM, Z.B., SEYDİM, A.C., GREENE, A.K. (2000b). Organic acids and volatile flavor components evolved during refrigerated storage of kefir. *J. Dairy Sci.*, **83**: 275-277.
- GÜZEL-SEYDİM, Z.B., WYFFELS, J.T., SEYDİM, A.C., GREENE, A.K. (2005). Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscobic observation. *Int. J. Dairy Tech.*, **58**(1): 25-29.

- HALLE, C., LEROI, F., DOUSSET, X., PIDOUX, M. (1994). Les kefir: des associations bacteries lactiques-levures. In: ÖTLEŞ, S., ÇAĞINDI, Ö. (2003). Kefir: A Probiotic Dairy Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. *Pakistan Journal of Nutrition.*, **2(2)**: 54-59.
- HARTMAN, P.A., DEIBEL, R.H., SIEVERDING, L.M (1992). *Enterococci*. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Eds. C. Vanderzant and D.F. Splittoesser, American Public Health Association, Washington, p.: 523-531.
- HERTZLER, S.R., CLANCY, S.M. (2003). Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *J. Am. Diet Assoc.*, **103 (5)**: 582-587.
- HITCHINS, A.D., HARTMAN, P.A., TODD, E.C.D. (1992). Coliform- *Escherichia coli* and its toxins. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3rd Eds: C. Vanderzant, D.F. Splittoesser. Washington, D.C. American Public Health Association. p.: 325-367.
- IRIGOYEN, A., ARANA, I., CASTIELLA, M., TORRE, P., IBANEZ, F.C. (2005). Microbiological, physicochemical and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chem.*, **90**: 613-620.
- İNAL, T. (1990). Süt ve süt ürünleri hijyen ve teknolojisi. İstanbul. Final Ofset, s.: 559- 566.
- KARAGÖZLÜ, C., KAVAS, G. (2000). Alkollü fermente süt içecekleri: Kefir ve kımızın özellikleri ve insan beslenmesindeki önemi. *Gıda.*, **6 (7)**: 86-93.
- KOROLEVA, N.S. (1982). Special products (kefir, koumyss, etc.). International Dairy Congress 146-152. In: FARNWORTH, E.R. (2005). Kefir- a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods.*, **2(1)**: 1-17.
- KOROLEVA, N.S. (1988a). Technology of kefir and kumys. *IDF Bulletin.*, **227**: 96-100.
- KOROLEVA, N.S. (1988b). Starters for fermented milks. *IDF Bulletin.*, **227**: 35-40.
- KROGER, M. (1993). Kefir. *Cultured Dairy Prod. J.*, **28**: 26-29.
- KWON, C.S., PARK, M.Y., CHO, J.S., CHOI, S.T., CHANG, D.S. (2003). Identification of effective microorganisms from kefir fermented milk. *Food Sci. Biotech.*, **12**: 476-479.
- La RIVIERE, J.W.M., KOOIMAN, P., SCHMIDT, K. (1967). Kefiran, a novel polysaccharide produced in the kefir grain by *Lactobacillus brevis*. *Archiv fur. Mikrobiologie* **59**: 269-278.
- LIBUDZISZ, Z., PIATKIEWICZ., A. (1990). Kefir production in Poland. *Dairy Industry. International*, **55**: 31-33.
- LIN, C.W., CHEN, C.L., LIU, J.R. (1999). Identification and characterization of lactic acid bacteria and yeasts isolated from kefir grains in Taiwan. *Aust. J. Dairy Tech.*, **54**: 14-18.

- MAINVILLE, I., MONTPETIT, D., DURAND, N., FARNWORTH, E.R. (2001). Deactivating the bacteria and yeast in kefir using heat treatment, irradiation and high pressure. *Int. Dairy J.*, **11**: 45-49.
- MARQUINA, D., SANTOS, A., CORPAS, I., MUNOZ, J., ZAZO, J., PEINADO, J.M. (2002). Dietary influence of kefir on microbial activities in the mouse bowel. *Letters in Applied Microbiology.*, **35**: 136-140.
- MARSHALL, V.M., COLE, W.M. (1985). Methods for making kefir and fermented milks based on kefir. *J. Dairy Res.*, **52**: 451-456.
- MARTINI, M.C., BOLLWEG, G.L., LEVITT, M.D., SAVAIANO, D.A. (1987). Lactose digestion by yogurt β -galactosidase: influence of pH and microbial cell integrity. *Am. J. Clin. Nutr.*, **45**: 432-436.
- MERIN, U., ROSENTHAL, I. (1986). Production of kefir from UHT milk. *Milchwissenschaft.*, **41** (7): 395-396.
- METİN, M., TAVLAŞ. B. (1986). Kefir tanesi ve kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin kalitesi üzerine olgunlaşma koşullarının etkisi. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, **4**(1): 51-68.
- MISLIVEC, P.B., BEUCHAT, L.R., COUSIN, M.A. (1992). Yeasts and Moulds. In: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3rd edition. Ed. Vanderzant, C., Splittstosser, D.F., America Public Health Association. Chapter **16**: 239-249. Washington, D.C.
- MOLSKA, I., NOWOSIELSKA, R., FRELIK, I (2003). Changes in microbiological quality of kefir and yoghurt on the Warsaw market in the years 1995-2000. Article in polish, abstract only.
- MUIR, D.D., TAMIME, A.Y., WSZOLEK, M. (1999). Comparison of the sensory profiles of kefir, buttermilk and yoghurt. *Int. J. Dairy Tech.*, **52**: 129-134.
- MUSTAPHA, A., JIANG, T., SAVAIANO, D.A. (1997). Improvement of lactose digestion by humans following ingestion of unfermented acidophilus milk: Influence of bile sensitivity, lactose transport and acid tolerance of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.*, **80**: 1537-1545.
- NINANE, V., BERBEN, G., ROMNEE, J.M., OGER, R. (2005). Variability of the microbial abundance of a kefir grain starter cultivated in partially controlled conditions. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **9** (3): 191-194.
- ODET, G. (1995). Fermented milks. *IDF Bull.*, **300**: 98-100.
- ÖTLEŞ, S., ÇAĞINDI, Ö. (2003). Kefir: A Probiotic Dairy Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. *Pakistan Journal of Nutrition.*, **2**(2): 54-59.
- OTSOA, F.L., REMENTERIA, A., ELGUEZABAL, N., GARAIZAR, J. (2006). Kefir: A Symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. *Rev. Iberoam. Micol.*, **23**: 67-74.

- RODRIGUES, K.L., CAPUTO, L.R.G., CARVALHO, J.C., EVANGELISTA, J., SCHNEEDORF, J.M. (2005). Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, **25**: 404-408.
- SALOFF- COSTE, C.J. (1996). Kefir. Danone Worlds Newsletter, No:11. Erişim:[http://www.danonevitapole.com/nutri_views/newsletter/eng/news_11/titre2.html]. Erişim tarihi: 07. Eylül. 2006.
- SANTOS, A., SAN MAURO, M., SANCHEZ, A., TORRES, J.M., MARQUINA, D. (2003). The antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. isolated from kefir. *System. App. Microbiol.*, **26**: 434-437.
- SIMOVA, E., BESHKOVA, D., ANGELOV, A., HRISTOZOVA, T.S., FRENGOVA, G., SPASOV, Z. (2002). Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *J. Ind. Mic. Biotech.*, **28**: 1-6.
- SWANSON, K.M.L., BUSTA, F.F., PETERSON, E.H., JOHNSON, M.G (1992). Colony Counts Method. In: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3rd edition. Ed. Vanderzant, C., Splittstosser, D.F., America Public Health Association. Chapter **16**: 239-249. Washington, D.C.
- THAMPSON, J.K., JOHNSTON, D.E., MURPHY, R.J., COLLINS, M.A. (1990). Characteristics of a milk fermentation from rural Northern Ireland which resembles kefir. *Irish J. Food Sci. Tech.*, **14**: 35-49.
- ÜNLÜTÜRK, A., TURANTAŞ, F. (1998). Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, 1. Baskı, s.: 467.
- WYDER, M.T., (1998). Identification and characterisation of the yeast flora in kefir and smear ripened cheese: Contribution of selected yeasts to cheese ripening. *Int. J. Food Mic.*, **86** (2003): 51– 60.
- WYDER, M.T., SPILLMANN, H., MEILE, L., PUHAN, Z. (1997). Investigation of the yeast flora in dairy products: a case study of kefir. *Food Tech. Biotech.*, **35**: 299-304.
- WITTHUHN, R.C., SCHOEMAN, T., BRITZ, T.J. (2004). Isolation and characterization of the microbial population of different South African kefir grains. *Int. J. Dairy Tech.*, **57** (1): 33-37.
- WITTHUHN, R.C., SCHOEMAN, T., BRITZ, T.J. (2005). Characterisation of the microbial population at different stages of kefir production and kefir grain mass cultivation. *Int. Dairy J.*, **15**: 383-389.
- WSZOLEK, M., TAMIME, A.Y., MUIR, D.D., BARCLAY, M.N.I. (2001). Properties of kefir made in Scotland and Poland using bovine, caprine and ovine milk with different starter cultures. *Lebensm.- Wiss. u.- Technol.*, **34**: 251- 261.
- YAYGIN, H., KILIÇ, S. (1991). Kefir kültürünün beyaz peynir yapımında kullanılması üzerine bir araştırma. *Gıda.*, **16** (6): 351-358.
- YILMAZ, L., YILSAY, T.O., BAYAZIT, A.A. (2006). The sensory characteristics of berry-flavoured kefir. *Czech. J. Food Sci.*, **24**: 26-32.

- YÜKSEKDAĞ, Z.N., BEYATLI, Y., ASLIM, B. (2004). Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefir with natural probiotic. *Lebensm.-Wiss. u.- Technol.*, **37**: 663-667.
- ZOURARI, A., ANIFANTAKIS, E. M. (1988). Le kefir: Caractères physicochimiques, microbiologiques et nutritionnels. In: FONTAN, M.C.G., MARTINEZ, S., FRANCO, I., CARBALLO, J. (2006). Microbiological and chemical changes during the manufacture of kefir made from cow's milk, using a commercial starter culture. *Int. Dairy J.*, **16**: 762-767.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı : Ayşe
Soyadı : DİNÇ
Doğum Yeri ve Tarihi : Burhaniye/1981
Uyruğu : T.C.
Medeni Durumu : Bekar
İletişim Adresi ve Telefonu : Çekirge Cad. Beşevler Sok. No: 5/3
Osmangazi/BURSA
0532 5094110

Eğitimi

Üniversite : Hacettepe Üniversitesi (1999-2004)
Lise : Balıkesir Lisesi (1996-1999)
Ortaokul : Anadolu İmam-Hatip Lisesi (1992-1996)
İlkokul : Dumlupınar İlkokulu (1987-1992)
Yabancı Dil : İngilizce

Mesleki Deneyimi

Şevket Yılmaz Devlet Hastanesi / BURSA
Roche Müstahzarları Sanayi A.Ş. / ANKARA
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cebeci Hastanesi / ANKARA
Fresenius Medical Care Diyaliz Merkezleri / BURSA

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türkiye Diyetisyenler Derneği

Bilimsel Etkinlikleri

Seminer : Olestra