

ÖZET

FARKLI SICAKLIK-SÜRE KOMBİNASYONLARINDA ISIL STRESE MARUZ BIRAKILAN *L. ACIDOPHILUS*'UN DONDURMA ÜRETİMİNDE KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

Firuze ERGİN

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN
Aralık 2013, 72 sayfa

Bu çalışmada farklı gelişim evrelerinde (çoğalma ve durma evresi) ısıl strese karşı adaptasyonu sağlanmış probiyotik bakteri (*Lactobacillus acidophilus*) ve farklı üretim yöntemleri kullanılarak probiyotik dondurma üretilmesi amaçlanmıştır. Probiyotik dondurmalar -20°C’de 90 gün süreyle depolanmış ve depolamanın 1. gününde probiyotik dondurmanın fizikokimyasal özellikleri; depolamanın 1., 30., 60. ve 90. günlerinde ise mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri belirlemiştir.

Bu araştırmanın ilk aşamasında, farklı gelişim evrelerindeki (çoğalma ve durma) *L. acidophilus* farklı sıcaklık-süre kombinasyonlarında ısıl strese adapte edildikten sonra -20°C’de 30 gün depolanmıştır. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre -20°C’de 30 gün depolama süresince *L. acidophilus*’un canlı kalma düzeyinin başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısına göre en yüksek olduğu ısıl adaptasyon koşulları tespit edilmiştir. Sıcaklık, süre ve gelişme evresi olarak *L. acidophilus*’un adaptasyon koşulları, optimum gelişme sıcaklığının altı için ve optimum gelişme sıcaklığının üstü için sırasıyla 4°C, 18 saat ve çoğalma evresi kombinasyonu ile 45°C, 15 dakika ve çoğalma evresi kombinasyonu olarak belirlenmiştir.

Süt içerisinde, belirlenen koşullarda ısıl adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* kullanılarak “Probiyotik Dondurma” üretilmiştir. Probiyotik dondurma üretimi; miksin ısıl adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* içeren süt ile fermente edildikten sonra dondurmaya işlenmesi (1. yöntem) ve ısıl adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* içeren süt eklenen miksin fermente edilmeden dondurmaya işlenmesi (2. yöntem) olmak üzere 2 farklı yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın kontrol grubunu ise, ısıl strese karşı adapte edilmeyen *L. acidophilus* kullanılarak her iki yönleme göre üretilen dondurma örnekleri oluşturmuştur.

Dondurma miksleri ve dondurma örnekleri fizikokimyasal özellikleri açısından değerlendirildiğinde, birinci ve ikinci yöntem kullanılarak üretilen dondurmalar arasındaki fark önemli ($P<0.001$) bulunmuştur. Isıl adaptasyon uygulamalarının sadece dondurma mikslерinin viskozite değeri üzerine etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir.

Tüm probiyotik dondurma örneklerinde 90 günlük depolama sonunda yeterli sayıda probiyotik bakteri ($\geq 10^7$ kob/g) bulunduğu saptanmıştır. Depolama süresinin sonunda en düşük azalma oranının 4°C’de 18 saat tutularak ısıl adaptasyonu sağlanan *L. acidophilus* kullanılarak 1. yöntemle üretilen dondurma örneklerinde olduğu tespit edilmiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre, ısıl adaptasyonu sağlanan *L. acidophilus*’un dondurma üretiminde kullanılacağı belirlenmiştir. Ayrıca dondurma miksinde fermantasyon işlemi uygulanmadan üretilen probiyotik dondurmaların panelistler tarafından daha fazla beğenildiği saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELELER: Probiyotik dondurma, ısıl stres adaptasyonu, probiyotik bakteri

JÜRİ: Doç. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN (Danışman)

Doç. Dr. Pınar YERLİKAYA

Yrd. Doç. Dr. Muammer DEMİR

ABSTRACT

RESEARCH ON THE USAGE OF HEAT STRESS ADAPTED *L. ACIDOPHILUS* AT DIFFERENT TIME-TEMPERATURE COMBINATIONS IN MANUFACTURE OF ICE CREAM

Firuze ERGİN

MSc in Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

December 2013, 72 pages

To manufacture of probiotic ice cream produced by using *Lactobacillus acidophilus*, which was adapted to heat stress at its different growth phases (log and stationary phases) and with different manufacturing methods was aimed in this study. Probiotic ice cream was stored at -20°C for 90 days and physicochemical properties of the probiotic ice cream samples, and microbiological and sensorial properties of probiotic ice cream samples were determined on day 1 and on days 1, 30, 60 and 90 of the storage, respectively.

In the first stage of the study, *L. acidophilus* at different growth phases (log and stationary phases) was adapted to heat stress, which at different time-temperature combinations, then stored at -20°C for 30 days. According to the microbiological analysis results, heat adaptation conditions were determined by the highest survival rate of *L. acidophilus* in the samples during 30 days of storage to the count of heat-adapted *L. acidophilus* in MRS broth. Adaptation conditions of *L. acidophilus*, such as temperature, time and growth phase, were combination of 4°C, 18-hour and log-phase and combination of 45°C, 15-minute and log phase for below-optimum growth temperature and above-optimum growth temperature, respectively.

Probiotic ice cream was produced by using *L. acidophilus*, which was adapted at specified heat adaptation conditions in milk. Probiotic ice cream was produced by the following two different methods: ice cream mix was fermented by heat-adapted *L. acidophilus* in milk prior to freezing (the first method) and heat-adapted *L. acidophilus* in milk was added to ice cream mix prior to freezing (the second method). Probiotic ice cream samples produced by using non-adapted *L. acidophilus* and with both of manufacturing methods were control samples of the study.

Significant differences ($P < 0.001$) were found among ice cream mixes, and the ice cream samples produced by the first method and by the second method regarding physicochemical properties. The viscosity value of ice cream mix was significantly affected by the heat adaptation treatments.

At the end of the 90-day storage sufficient numbers ($\geq 10^7$ cfu/g) of probiotic bacteria was found in all probiotic ice cream samples. The lowest reduction ratio of number of *L. acidophilus* in the samples at the end of the storage was determined in the

ice cream samples produced with the first method and by using *L. acidophilus*, which was adapted at 4°C for 18 hours. According to the sensory evaluation results, probiotic ice cream can be produced by using *L. acidophilus*, which was adapted to heat stress. However, it was determined that probiotic ice cream produced from non-fermented ice cream mix was more preferred by panelists.

KEYWORDS: Probiotic ice cream, heat stress adaptation, probiotic bacteria

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN (Supervisor)

Assoc. Prof. Dr. Pınar YERLİKAYA

Asst. Prof. Dr. Muammer DEMİR

ÖNSÖZ

Besleyici değeri ve sağlık ile ilgili olumlu özellikleri nedeniyle son yıllarda probiyotik süt ürünlerinin tüketimine olan ilgi artmaktadır. Probiyotikler, bağırsaktaki mikrobiyal dengeyi koruması ya da geliştirmesiyle tüketici sağlığına yararlı etkisi olan canlı mikrobiyal gıda katkısıdır. Probiyotik bakterilerin sağlıkla ilgili tedavi edici etkilerinden yararlanmada yoğurt, ayran, dondurma ve çeşitli peynirler kullanılabilir.

Probiyotik ürünlerden arzu edilen yararların sağlanabilmesi için bu ürünlerde en az 10^6 - 10^7 kob/g canlı probiyotik bakteri bulunması gerekmektedir. Ayrıca bu bakterilerin sayısında ürünün raf ömrü süresince ve insan sindirim sisteminden geçerken önemli bir azalma olmaması istenmektedir. Probiyotik bakteri sayısındaki azalmanın önüne geçebilmek için olumsuz ortam koşullarına dirençli suşların seçilmesi, oksijen geçirgenliği olmayan ya da düşük oksijen geçirgenliği olan ambalaj kullanımı (plastik ambalaj yerine cam ambalaj kullanımı gibi), iki basamaklı fermantasyon uygulanması, prebiyotik kullanımı, askorbik asit ilavesi, kullanılacak bakterinin mikroenkapsülasyonu ve stres adaptasyonunun sağlanması gibi yöntemler uygulanmaktadır. Bu çalışmada dondurma miksine ısı stres koşullarına adapte edilmiş probiyotik bakteri (*Lactobacillus acidophilus*) eklenerek farklı üretim yöntemleri ile “Probiyotik Dondurma” üretilmiş ve üretilen dondurmaların mikrobiyolojik özellikleri ile diğer bazı kalite parametreleri karşılaştırılmalı olarak ortaya konulmuştur.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde bana her türlü yardım ve destekte bulunan ve bu konuda çalışma olanağı sağlayan Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN’e, çalışmalarım sırasında yardımlarda bulunan Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nün tüm öğretim üyelerine, öğretim görevlilerine, araştırma görevlilerine ve lisansüstü öğrencilerine teşekkürlerimi sunarım.

Projeye verdikleri desteklerden ötürü Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi ve TÜBİTAK’a teşekkür ederim.

Son olarak maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan, şu an bulunduğum noktada olmamda en büyük payın sahipleri aileme teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI	4
2.1. Düşük Sıcaklık Stresine Karşı Adaptasyon Mekanizmaları.....	10
2.1.1. Protein sentezindeki değişimler	10
2.1.2. Hücre zarındaki değişimler	12
2.2. Yüksek Sıcaklık Stresine Karşı Adaptasyon Mekanizmaları.....	14
2.2.1. DnaK-DnaJ-GrpE Şaperon sistemi.....	15
2.2.2. GroES-GroEL Şaperon sistemi.....	17
2.2.3. Küçük Sıcaklık Şok Proteinleri (sHSPs)	18
2.2.4. Proteazlar	19
2.3. Bakterilerin Çoğalma ve Durma Evresinde Strese Karşı Adaptasyonu	20
3. MATERYAL ve METOT	21
3.1. Materyal.....	21
3.2. Metot.....	21
3.2.1. Probiyotik dondurma üretiminde kullanılmak üzere kültür hazırlanması.....	21
3.2.2. Isıl adaptasyon uygulaması	21
3.2.3. Probiyotik dondurma üretimi.....	22
3.3. Analizler	23
3.3.1. Fizikokimyasal analiz yöntemleri	23
3.3.1.1. Dondurma miksinde yapılan analizler.....	23
3.3.1.1.1. Viskozite tayini.....	23
3.3.1.1.2. Titrasyon asitliği tayini	23
3.3.1.1.3. pH tayini	24

3.3.1.2. Probiyotik dondurmalarda yapılan analizler	24
3.3.1.2.1. Kurumadde tayini.....	24
3.3.1.2.2. Yağ tayini.....	24
3.3.1.2.3. Protein tayini.....	24
3.3.1.2.4. Kül tayini	24
3.3.1.2.5. Toplam şeker tayini.....	25
3.3.1.2.6. Titrasyon asitliği tayini	25
3.3.1.2.7. pH tayini.....	25
3.3.1.2.8. Hacim artışı (over-run) tayini	25
3.3.1.2.9. Erime miktarı tayini	25
3.3.1.2.10. Sertlik değeri tayini.....	26
3.3.1.3. Mikrobiyolojik analiz yöntemleri	26
3.3.1.3.1. Seri dilüsyonların hazırlanması.....	26
3.3.1.4. Duyusal analiz yöntemi.....	26
3.3.1.5. İstatistik analiz yöntemi	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	28
4.1. <i>L. acidophilus</i> DSM 20079'un Gelişim Eğrisinin Oluşturulması.....	28
4.2. <i>L. acidophilus</i> 'a Uygulanan Isıl Adaptasyon Koşullarının Belirlenmesi.....	29
4.3. Fizikokimyasal Analiz Sonuçları	40
4.3.1. Probiyotik dondurma miksellerinin pH, titrasyon asitliği ve viskozite değerleri	40
4.3.2. Probiyotik dondurma örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerleri	44
4.3.3. Probiyotik dondurma örneklerine ait kurumadde, kül, yağ, protein ve toplam şeker miktarı.....	46
4.3.4. Probiyotik dondurmalara ait sertlik ve hacim artışı (over-run) değerleri.....	47
4.3.5. Probiyotik dondurmalara ait erime miktarları	50
4.3.6. Probiyotik dondurmalara ait mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	50
4.4. Duyusal Analiz Sonuçları	54
4.4.1. Renk ve görünüş	55
4.4.2. Yapı ve kıvam	56
4.4.3. Tat ve koku	58

5. SONUÇ	60
6. KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

kg	Kiliogram
g	Gram
mg	Miligram
kDa	Kilodalton
mm	Milimetre
ml	Mililitre
kob	Koloni oluşturan birim sayısı
rpm	Dakikadaki devir sayısı
°C	Santigrat derece
cP	Centi-poise
dk	Dakika

Kısaltmalar

KO	Kareler ortalaması
OD	Optik yoğunluk
SD	Serbestlik derecesi
TS	Türk Standartları

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. DnaK-DnaJ-GrpE şaperon sisteminin çalışma mekanizması.	16
Şekil 2.2. GroES-GroEL şaperon sisteminin çalışma mekanizması.	18
Şekil 2.3. Hsp27 (HspB1)'nin yapısal bölgeleri	18
Şekil 2.4. Clp kompleksinin yapısı	19
Şekil 3.1. Birinci yöntemle göre probiyotik dondurma üretimi	22
Şekil 3.2. İkinci yöntemle göre probiyotik dondurma üretimi.....	23
Şekil 4.1. <i>L. acidophilus</i> DSM 20079'un mikrobiyolojik sayım sonuçları ile oluşturulan gelişim eğrisi	28
Şekil 4.2. <i>L. acidophilus</i> DSM 20079'un optik yoğunluk (OD ₆₀₀) değerlerinin ölçülmesi ile oluşturulan gelişim eğrisi	28
Şekil 4.3. Depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki <i>L. acidophilus</i> 'un sayısındaki azalma oranının (%) dondurma miksine göre değişimi	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Dondurma örneklerinin duyusal niteliklerinin saptanmasında kullanılan puanlama ölçütler	27
Çizelge 4.1. İki farklı gelişim evresi için optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyonu sağlanan <i>L. acidophilus</i> 'un stres uygulaması (-20°C'de 30 gün süresince depolama) sonucundaki sayım sonuçları (log kob/ml)	29
Çizelge 4.2. İki farklı gelişim evresi için optimum gelişme sıcaklığının üstündeki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyonu sağlanan <i>L. acidophilus</i> 'un stres uygulaması (-20°C'de 30 gün süresince depolama) sonucundaki sayım sonuçları (log kob/ml)	31
Çizelge 4.3. İki farklı gelişim evresi için optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyonu sağlanan <i>L. acidophilus</i> 'un sayısının stres uygulaması (-20°C'de 30 gün süresince depolama) sonucundaki azalma oranı	33
Çizelge 4.4. İki farklı gelişim evresi için optimum gelişme sıcaklığının üstündeki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyonu sağlanan <i>L. acidophilus</i> 'un sayısının stres uygulaması (-20°C'de 30 gün süresince depolama) sonucundaki azalma oranı	34
Çizelge 4.5. <i>L. acidophilus</i> için optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyon uygulamasının sonundaki sayım sonuçlarının başlangıçtaki <i>L. acidophilus</i> sayısına oranlarına ait varyans analiz sonuçları	36
Çizelge 4.6. <i>L. acidophilus</i> için optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyon uygulamasının sonundaki sayım sonuçlarının başlangıçtaki <i>L. acidophilus</i> sayısına oranlarına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	36
Çizelge 4.7. <i>L. acidophilus</i> için optimum gelişme sıcaklığının üstündeki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyon uygulamasının sonundaki sayım sonuçlarının başlangıçtaki <i>L. acidophilus</i> sayısına oranlarına ait varyans analiz sonuçları	38
Çizelge 4.8. <i>L. acidophilus</i> için optimum gelişme sıcaklığının üstündeki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyon uygulamasının sonundaki sayım sonuçlarının başlangıçtaki <i>L. acidophilus</i> sayısına oranlarına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	39
Çizelge 4.9. Probiyotik dondurma miksellerinin ortalama pH, titrasyon asitliği ve viskozite değerleri	41
Çizelge 4.10. Probiyotik dondurma miksellerinin pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları	41
Çizelge 4.11. Probiyotik dondurma miksellerinin pH değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	42

Çizelge 4.12. Probiyotik dondurma mikslerinin titrasyon asitliği değerlerine ait varyans analiz sonuçları	42
Çizelge 4.13. Probiyotik dondurma mikslerinin titrasyon asitliği değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	43
Çizelge 4.14. Probiyotik dondurma mikslerinin viskozite değerlerine ait varyans analiz sonuçları	43
Çizelge 4.15. Probiyotik dondurma mikslerinin viskozite değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	44
Çizelge 4.16. Probiyotik dondurmaların ortalama pH ve titrasyon asitliği değerleri	44
Çizelge 4.17. Probiyotik dondurmaların pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları	45
Çizelge 4.18. Probiyotik dondurma örneklerinin pH değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	45
Çizelge 4.19. Probiyotik dondurmaların titrasyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları	46
Çizelge 4.20. Probiyotik dondurma örneklerinin titrasyon değerlerine (%) ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	46
Çizelge 4.21. Probiyotik dondurma örneklerine ait kurumadde, kül, yağ, protein ve toplam şeker miktarı.....	47
Çizelge 4.22. Probiyotik dondurmalara ait sertlik ve hacim artışı (over-run) değerleri	48
Çizelge 4.23. Probiyotik dondurmaların sertlik değerlerine ait varyans analiz sonuçları	48
Çizelge 4.24. Probiyotik dondurma örneklerinin sertlik değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	49
Çizelge 4.25. Probiyotik dondurmaların hacim artışı değerlerine ait varyans analiz sonuçları	49
Çizelge 4.26. Probiyotik dondurma örneklerinin hacim artışı değerlerine (%) ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	49
Çizelge 4.27. Probiyotik dondurmaların ortalama erime miktarları (g)	50
Çizelge 4.28. Isıl adaptasyon uygulanmadan önce ve sonra sütteki ortalama <i>L.acidophilus</i> sayısı ile dondurma miksinde, üretim sonrası ve depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki ortalama <i>L.acidophilus</i> sayısı.....	52
Çizelge 4.29. Depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki <i>L.acidophilus</i> sayısının dondurma mikslerine göre azalma oranı (%).....	52
Çizelge 4.30. Depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki <i>L. acidophilus</i> sayısının dondurma mikslerine göre azalma oranına ait varyans analiz sonuçları	53

Çizelge 4.31. Depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki <i>L. acidophilus</i> sayısının dondurma mikslerine göre azalma oranına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	54
Çizelge 4.32. Probiyotik dondurmalarla ait renk ve görünüş puanları (Tam puan=5).....	55
Çizelge 4.33. Probiyotik dondurmaların renk ve görünüş puanlarına ait varyans analiz sonuçları	55
Çizelge 4.34. Probiyotik dondurmaların renk ve görünüş puanlarına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	56
Çizelge 4.35. Probiyotik dondurmalarla ait yapı ve kıvam puanları (Tam puan=5).....	57
Çizelge 4.36. Probiyotik dondurmaların yapı ve kıvam puanlarına ait varyans analiz sonuçları	57
Çizelge 4.37. Probiyotik dondurmaların yapı ve kıvam puanlarına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	58
Çizelge 4.38. Probiyotik dondurmalarla ait tat ve koku puanları (Tam puan=5)	58
Çizelge 4.39. Probiyotik dondurmaların tat ve koku puanlarına ait varyans analiz sonuçları	59
Çizelge 4.40. Probiyotik dondurmaların tat ve koku puanlarına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	59

1. GİRİŞ

İnsan sağlığı ile tüketilen gıdalar arasındaki yakın ilişki, sağlıklı beslenmeye yönelik araştırmaların giderek artmasına imkân sağlamıştır. Günümüzde tüketiciler, sağlıklı ve dengeli beslenme kavramına uygun gıdaları tercih etmektedirler (Turgut 2006, Şener 2009). Fonksiyonel gıdalar, en basit şekilde temel beslenmenin yanında sağlığa yararları olan gıdalar olarak tanımlanmaktadır (Gürsoy vd 2005). Üretiminde probiyotik bakterilerin kullanıldığı gıdalar, fonksiyonel gıda kategorisinde yer almakta olup toplam fonksiyonel gıda pazarının %60'ından fazla kısmını temsil etmektedir (Mortazavian vd 2012).

Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinin Genel Etiketleme ve Beslenme Yönünden Etiketleme Kuralları Tebliği'ne göre probiyotik bakteri; besinlerle alınan ve belirli miktarda alındığında bağırsak florasını dengeleyip konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı bakterileri, probiyotik gıda ise içerisinde raf ömrü sonuna kadar yeterli miktarda canlı probiyotik bakteri bulunduran ve bu canlılığı muhafaza eden ürünü ifade etmektedir (Anonim 2006, Anonim 2012).

Probiyotiklerin tüketimi sonucu sağlığa olumlu faydaları; laktoz toleransını arttırması, sindirim sistemi enfeksiyonlarını engellemesi, kanser riskini azaltması, kolesterolü düşürerek kalp damar hastalıklarını engellemesi, sindirim zorluklarını gidermesi ve bağışıklık sistemini kuvvetlendirmesi olarak özetlenebilmektedir (Akman 2009). Probiyotik bakteriler; yoğurt, peynir, dondurma ve sütlü tatlılar gibi süt ürünleri ile tahıllar ve meyve suları gibi süt içermeyen ürünlerin dâhil olduğu çeşitli gıdaların üretiminde kullanılmaktadır. Probiyotik ürünlerden beklenen yararların sağlanabilmesi, içerdikleri probiyotik bakterilerin canlılıklarını korumasına ve bağırsak hücrelerine tutunarak kolonize olmasına bağlıdır (Shortt 1999, Kılıç 2001).

Probiyotik bakteri içeren fonksiyonel gıdaların geliştirilmesini ve üretimini kısıtlayan birtakım şartlar söz konusudur. Bunlar; yüksek sıcaklık, kurutma, dondurma, yüksek basınç, asidik veya alkali ortam gibi gıdanın işlenmesinden kaynaklanan engeller, sindirim sistemi enzimleri, yüksek asidik ortam ile safra tuzları gibi gıdanın tüketiminden sonra insan metabolizmasından kaynaklanan engeller ve zengin besin maddeleri gereksinimi, oksijen, sıcaklık, pH, inhibitörler ve rekabetçi mikroorganizmalardan kaynaklanan stres koşulları gibi bakterinin kendisinden kaynaklanan engellerdir. Probiyotik gıda üretimini kısıtlayan en önemli etken, kullanılan bakterilerin canlılığını gerektiği düzeyde koruyamamasıdır (Çakır 2006). Probiyotik bakteri içeren gıdaların işlenmesi ve tüketimi sonrası sindirimi süresince canlı kalabilmeleri; gıdanın üretiminde kullanılan bakterinin hazırlanış koşulları, bakteri suşu ve söz konusu probiyotik bakterilerin canlı olarak bağırsağa taşınmasını sağlayan gıda matriksinin seçimi gibi çok sayıda faktöre bağlıdır (Özer 2006).

Dondurma, besin değerinin yüksek olması ve sindiriminin kolaylığı yanında sevilen tat ve aroması ile ferahlatıcı niteliği sayesinde tüketimi oldukça fazla olan ve toplumun hemen hemen her kesimi tarafından sevilerek tüketilen bir süt ürünüdür (Turgut 2006). Ayrıca, probiyotiklerin canlı bakteri olmaları sebebiyle, etkilerini kaybetmemeleri için soğukta saklanmaları gerektiğinden dondurmanın, uzun depolama sürecinde bile

probiyotik bakteri kaybını önleyebilen bir gıda olduğu bildirilmektedir. Buna karşın probiyotik bakteriler, probiyotik dondurmanın üretimi sırasında mekanik, oksidatif ve düşük sıcaklık stresleriyle; probiyotik dondurmanın tüketimi sırasında ise sindirim sıvılarından kaynaklanan yüksek asitlik ve safra tuzu stresi gibi olumsuz faktörlerle karşılaşmaktadır (Şener 2009). Probiyotik bakterilerin karşılaştıkları söz konusu stres koşulları gelişimlerini engellemekte, metabolik aktivitelerini azaltmakta veya tamamen ölümlerine yol açabilmektedir (Özer 2001, Haynes ve Playne 2002, Erişir 2005).

Bakterilerin çoğalmasını veya faaliyet göstermesini olumsuz yönde etkileyen herhangi bir zararlı faktöre/ortama stres adı verilmektedir. Bakteriler stres koşullarına maruz kaldıklarında hücre zarı geçirgenliklerinde değişimler, hücre protein yapısında farklılaşmalar, ribozomal hasarlar ve nükleik asitlerin olumsuz etkilenmesi gibi hücresel aktiviteleri etkileyen çeşitli değişiklikler ortaya çıkabilmektedir (Dikici 2009). Bakteriler stres koşullarıyla karşılaştıkları zaman, maruz kaldıkları stres koşuluna karşı geliştirdikleri farklı mekanizmalar ile olumsuz koşullara ve ani çevresel değişikliklere karşı uyum gösterebilmektedir. Stres koşulları altında bakterilerde meydana gelen bu fizyolojik değişiklikler strese adaptasyon (yanıt) olarak adlandırılmaktadır (Van De Gutche vd 2002, Streit vd 2007). Bakterilerin strese karşı adaptasyonlarının sağlanması, uygun bakteri suşu seçimi, gıda üretim proseslerinin modifikasyonu, depolama koşullarının iyileştirilmesi ve kontrol edilmesi, uygun ambalaj seçimi, ürünlerde probiyotiklerin kullanımı ve bakterilerin mikroenkapsülasyonu gibi teknikler probiyotiklerin canlılık düzeylerindeki azalmanın önüne geçmek veya en aza indirmek amacıyla uygulanabilmektedir (Ergin 2012).

Homayouni vd (2008) yaptıkları bir çalışmada, *Lactobacillus casei* Lc-01 ve *Bifidobacterium lactis* Bb-12'nin serbest ve kapsüllenmiş formlarını %1 oranında dondurma miksine ilave edilerek dondurma üretmişlerdir. Dondurma örnekleri -20°C'de 180 gün süresince depolanarak mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Dondurma örneklerinde depolamanın sonunda *L. casei* Lc-01 ve *B. lactis* Bb-12'nin serbest formlarının canlı kalma düzeylerinin sırasıyla 3.4 log ve 2.9 log birimlik azalma gösterdiği belirlenirken; *L. casei* Lc-01 ve *B. lactis* Bb-12'nin kapsüllenmiş formlarının canlı kalma düzeylerinin sırasıyla 1.4 log ve 0.7 log birimlik azalma gösterdiği tespit edilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada, *Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Bifidobacterium animalis* Bb-12 bakterileri ile farklı probiyotiklerin (inülin ve oligofruktoz) %4 oranında kullanıldığı probiyotik dondurma üretilerek -18°C'de 90 gün depolanmıştır. *L. acidophilus* LA-5 sayısı probiyotik kullanılmayan dondurma miksine 7.74 log kob/g, oligofruktozun kullanıldığı dondurma miksine 8.44 log kob/g ve inülinin kullanıldığı dondurma miksine 8.24 log kob/g olarak bulunurken, depolamanın sonunda probiyotik kullanılmayan ile oligofruktoz ve inülin kullanılan dondurma örneklerinde *L. acidophilus* La-5 sayısının sırasıyla 5.13 log kob/g, 5.70 log kob/g ve 5.12 log kob/g olduğu saptanmıştır. *B. animalis* Bb-12 sayısı ise probiyotik kullanılmayan dondurma miksine 7.58 log kob/g, oligofruktozun kullanıldığı dondurma miksine 8.49 log kob/g ve inülinin kullanıldığı dondurma miksine 8.12 log kob/g olarak belirlenirken, depolamanın sonunda probiyotik kullanılmayan ile oligofruktoz ve inülin kullanılan dondurma örneklerinde *B. animalis* Bb-12 sayısının sırasıyla 5.94 log kob/g, 6.25 log kob/g ve 5.47 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. Probiyotik olarak oligofruktozun, probiyotik bakteri

olarak da *B. animalis* Bb-12'nin kullanıldığı örneklerde canlılık düzeyindeki düşüşün diğer örneklere göre daha az olduğu saptanmıştır (Akalin ve Erişir 2008).

Isıl stres koşullarına karşı adapte edilen probiyotik bakterilerin dondurma üretiminde kullanımı ile ilgili herhangi bir çalışma tespit edilememiştir. Bu çalışmada, probiyotik dondurma üretiminde kullanılan probiyotik bakterinin canlılığının bakterinin gelişim evresine bağlı olarak ısı stresi adaptasyon tekniği ve farklı dondurma üretim yöntemleri ile mümkün olan en yüksek düzeyde korunması hedeflenmiştir. Probiyotik dondurmaları salt probiyotik bakterinin canlılık düzeyi bakımından değerlendirerek yeterli bir sonuca ulaşmak mümkün değildir. Dolayısıyla probiyotik dondurmaların üretim sonrası fizikokimyasal özellikleri ile depolama periyodu süresince duyuşal özellikleri belirlenmiş ve elde edilen veriler istatistiksel yöntemlerle değerlendirilmiştir. Ayrıca çalışma sonucunda elde edilen verilerin ülkemizde üretimi yok denilecek kadar az olan probiyotik dondurmanın endüstriyel üretimine ve daha sonra yapılacak olan çalışmalara katkıda bulunacağı umulmaktadır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

Dünya nüfusunun her geçen gün artış göstermesi, insanların beslenmesinde yer alan doğal kaynakların daha verimli kullanılmasını zorunlu hale getirmektedir. Ülkelerin ulusal gelirleri ya da yaşam düzeyleri yükseldikçe, bitkisel kaynaklı gıdalar yerini daha kaliteli ve protein yönünden zengin olan hayvansal kaynaklı gıdalara bırakmaktadır. Hayvansal kaynaklı gıdalar içerisinde besin değeri bakımından süt ve süt ürünleri önemli yer tutmaktadır (Akyüz ve Coşkun 1995).

Süt, yeni doğan yavrunun gelişebilmesi ve yaşamını devam ettirebilmesi için gerekli olan besin elementlerini yeterli ve dengeli miktarda içeren ideal bir gıda maddesidir. Bu besin elementlerini organizma tarafından kolayca alınabilecek ve sindirilebilecek şekilde içermesi nedeniyle süt, aynı zamanda beslenme fizyologları tarafından temel gıda maddesi olarak kabul edilmektedir (Metin 1999). Sütün vücutta en iyi değerlendirilme şekillerinden biri içme sütü olarak tüketilmesidir. Ancak içme sütü alışkanlığımızın olmayışı, sütün hacimli ve çok çabuk bozulabilen bir gıda olması, üretilen sütün büyük bir kısmının süt ürünlerine işlenmesini zorunlu kılmaktadır. Süt ürünleri içinde Dünya’da ve Türkiye’de önemli gelişmeler gösteren dondurma dikkat çekmektedir (Dervişoğlu 1995, Kırdar ve Gün 2002).

Dondurma; yağ, yağsız süt kurumaddesi, şeker, stabilizatör, emülgatör, bazen de lezzet ve renk veren maddelerden oluşan karışımın değişik şekillerde işlenmesiyle elde edilen, kompleks fizikokimyasal sisteme sahip besleyici bir süt ürünüdür (Özcan ve Kurdal 1997). Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliği’ne göre dondurma; içerisinde tat ve çeşidine göre süt ve/veya süt ürünleri, içme suyu, şeker ve izin verilen katkı maddelerini bulunduran, istenildiğinde salep, yumurta ve/veya yumurta ürünleri, aroma maddeleri ve çeşni maddeleri gibi bileşenleri içeren henüz dondurulmamış haldeki karışımın pastörizasyon sonrası tekniğine uygun olarak işlenmesi ve dondurulması ile elde edilen, yumuşak halde ya da sertleştirildikten sonra tüketime sunulan ürünü ifade etmektedir (Anonim 2004).

Genellikle %31-43 arasında kurumadde içeren dondurma, besin değerinin yüksek ve sindiriminin kolay olması yanında, herkes tarafından sevilen tat ve aroması, kendine özgü yapısı ve ferahlatıcı niteliği ile insanların ilgisini çekmektedir (Demirci ve Şimşek 1997). Dondurmanın bileşimi; tüketici istekleri ve bölgelere göre farklılık göstermekle birlikte, ortalama olarak %12 yağ, %11 yağsız kurumadde, %15 şeker ve %0.3 stabilizatör-emülsifiyer içermektedir (Küçükçetin vd 2009). Dondurmanın besin ve enerji değeri, bileşimine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Dondurma, süt bazlı olmasından dolayı süt bileşenlerinin birçoğunu farklı oranlarda içermektedir. Dondurma; genel olarak süte nazaran 3-4 kat daha fazla yağ, yaklaşık % 10-15 daha fazla protein ve yaklaşık dört kat daha fazla karbonhidrat içermektedir. Dondurma, bileşiminde çok çeşitli vitaminler (A, D, E, K, B₂, B₆, B₁₂ ve C) ile yeterli sayılabilecek düzeyde bazı mineral maddeleri (Ca, P, Mg, Na, K, I, Mn ve Zn) ihtiva etmektedir. Ayrıca formülasyona ilave edilen çeşitli katkıları da dondurmanın besleyicilik değerini arttırabilmektedir. Dondurma besin değerinin yanı sıra mükemmel bir enerji kaynağıdır. Dondurma bileşenlerinin tamamen sindirilebilir olması, dondurmaya özellikle büyüme çağındaki çocuklar ve kilo almak isteyen kişiler için arzu edilir bir ürün haline getirmiştir (Karaman 2009).

Son yıllarda ülkemizde endüstriyel dondurma üretiminin hızla artmasına rağmen kişi başına düşen tüketim miktarı gelişmiş diğer ülkelere oranla oldukça düşüktür (Koyun 2009). Yeni Zelanda'da yıllık kişi başına düşen dondurma tüketim miktarı 28 litre, Amerika Birleşik Devleti'nde 25 litre ve Almanya'da 8 litredir. Türkiye'de ise 1990'lı yıllarda 0.3 litre olan yıllık kişi başı dondurma tüketimi, 2009 yılında 2.8 litreye ulaşmıştır. Endüstriyel üretime bağlı olarak, Türkiye'de dondurma üretimi son yıllarda belirgin düzeyde artmış ve 2009'da 200 milyon litreye ulaşmış olup 2010 Ocak-Mayıs döneminde pazar % 29 oranında büyüme kaydetmiştir (Çallı 2010).

Ekonomik piyasa ve sağlık açısından önemli bir ürün olan dondurma ile ilgili tüketici beklentilerinin her geçen gün artmasına paralel olarak pazara farklı ürünler sunulmakta ve pazarın büyümesine destek verilmektedir. Sağlıklı ve dengeli beslenme konusunda artan tüketici bilinci ile birlikte özellikle probiyotik ürünler ön plana çıkmaktadır (Tokuç 2007). Probiyotik ürün, vücut için yararlı mikroorganizma ilave edilmiş gıdalara verilen isim iken; probiyotik mikroorganizma, gıdalarla belirli miktarlarda alındığında insan sağlığını olumlu yönde etkilediği kanıtlanmış olan canlı mikroorganizma suşları şeklinde tanımlanmaktadır (Gülmez ve Güven 2002, Anonim 2011).

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için öncelikle şu şartları taşıması gerekmektedir.

- Söz konusu mikroorganizma bilimsel literatürde rapor edilmiş olmalıdır.
- Gastrointestinal bölgede kolonize olarak bu bölgede mikroorganizmaların dengesini yönetici role sahip olmalıdır.
- Doğal antibiyotik etkisine sahip olarak patojenleri durdurmalıdır.
- Tüketilmesi güvenli olmalıdır.
- Ticari üretimde kullanılmaya elverişli olmalıdır.
- Sağlığı destekleyici olduğuna dair açık ve net kanıtlar olmalıdır (Tonguç 2006).

Probiyotik ürünlerin sağlık üzerindeki olumlu etkileri uzun yıllardan beri bilinmektedir. Gıdaların genellikle pastörize edilerek kullanıldığı günümüzde Metchnikoff'un 1900'lü yılların başında yoğurt tüketiminin sağlık üzerine olumlu etkilerine dikkat çekmiş olması probiyotik ürünleri değerli hale getirmiştir. Konu ile ilgili yapılan araştırmalarda sağlıklı bir yaşam sürmek, vücut direncini arttırmak, intestinal düzensizliklerle ve hastalıklarla mücadele etmek için probiyotik ürün tüketimi önerilmektedir (Çakır 2003). Fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi bakımından değerlendirildiğinde ise, başta fermente süt ürünleri olmak üzere fermente et ürünlerinde, bebek mamalarında ve geliştirilme aşamasında olan birçok gıdanın üretilmesinde probiyotik mikroorganizmalar kullanılmaktadır (Menrad 2003). Probiyotik mikroorganizmalar insan sağlığına, laktoz intolerans ile kabızlık semptomlarını hafifleterek, çeşitli tip diyareleri önleyerek, immün sistemin uyarılmasını sağlayarak ve antitümör ile antikanserijen etkiler göstererek katkıda bulunmaktadır (Gürsoy ve Kınık 2006).

Birçok mikroorganizma probiyotik özelliklere sahip olmakla birlikte yaygın olarak kullanılanlar laktik asit bakterileri, enterokoklar, laktobasiller ve bifidobakterilerdir (Tok ve Aslım 2007). *Lactobacillus acidophilus*'un probiyotik

ürünlerde kullanılan mikroorganizmalar içinde en güvenilir olanlarından biri olduğu belirtilmektedir. *L. acidophilus*'un diyetetik ve tedavi edici özelliklerine ilişkin çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu bakteriyle üretilen fermente süt ürünlerindeki besin maddeleri bir ön fermentasyona tabi tutulduğu için ürünlerin besleyici değeri artmakta, sindirilmeleri de süte kıyasla daha kolay olmaktadır. Protein ve yağın kısmen parçalanması da ürünün sindirilebilirliğini arttırmaktadır. β -galaktozidaz enzim aktivitesinin artışı ile laktozun hidrolize olması, laktoz intolerans kişilerin bu ürünleri rahatlıkla tüketebilmelerini sağlamaktadır. Ayrıca *L. acidophilus* ile üretilen fermente süt ürünlerindeki kalsiyum gibi bazı mineral maddelerin vücut tarafından daha iyi absorbe edildiği ve bu ürünlerin folik asit, niasin, biotin, pantotenik asit ile B₆ ve B₁₂ gibi B grubu vitaminler açısından süte göre daha zengin olduğu belirtilmektedir (Çomak 2010).

L. acidophilus, antibiyotik ve radyasyonla tedavi sonrasında bozulan bağırsak mikroflorasının yeniden düzenlenmesinde de kullanılabilir. *Salmonella* ve diğer enterobakterileri inhibe etmek için belirli dozda antibiyotik kullanıldığında hasta, tifo, paratifo, salmonellosis ve dizanteri gibi enfeksiyonlardan korunmakta; ancak bağırsak florası bozularak floradaki gram (+) bakteriler büyük oranda azalmaktadır. Bunun sonucunda hastada rahatsızlık verici semptomlar ortaya çıkmaktadır. Bu tip bir problemde hem bağırsaklarda yaşayabilen, hem de antibiyotiklere karşı dirençli olan *L. acidophilus* kültürü ile hastanın tedavisi desteklenmektedir (Rasic ve Kurman 1983). Vücutta sentezlenen ve gıdalarla alınan kolesterol safra asitlerine dönüşmektedir. *L. acidophilus* safra asitlerini dekonjuge edebilme yeteneğine sahiptir. Safra konsantrasyonundaki bu azalma, kolesterolün safra asitlerine dönüşümü ile telafi edilmekte ve böylece toplam kolesterol düzeyi de düşmektedir (Driessen ve Boer 1989, Gönç ve Akalın 1995). Belirli *L. acidophilus* suşları nitriti kullanarak bağırsak kanseri riskini azaltmaktadır. Metabolizmada bulunan fekal enzimler (azoredüktaz, β -glukuronidaz ve nitroredüktaz), prokanserojenlerin kanserojen maddelere dönüşmesine neden olmakta ve bu yüzden mukoza kanserinin teşhisinde kullanılmaktadır. Bağırsak bakterileri ise fekal enzimlerin aktivitesini önleyerek kanserojen maddelerin oluşumunu geciktirmektedir (Welch 1987).

Probiyotik ürünlerden beklenen yararların sağlanabilmesi, içerdikleri probiyotik bakterilerin büyük ölçüde canlılıklarını korumasına ve bağırsak hücrelerine tutunarak kolonize olmasına bağlıdır. Bu durum, probiyotik ürünlerin özellikle patojen bakteriler üzerindeki etkileri açısından önemlidir. Probiyotiklerin ürünlerde en az 10⁶-10⁷ kob/g düzeyinde bulunması gerektiği, bununla birlikte bazı türlerin 10⁷-10⁸ kob/g düzeyinde aktif, bazı türlerin ise 10⁶ kob/g gibi daha düşük miktarlarda etkili olabildiği belirtilmektedir (Shortt 1999, Kılıç 2001). Gıdada ve gıdanın tüketiminden sonra konakçıda canlı kalma ve çoğalma yetenekleri probiyotiklerin yararlılıklarını önemli ölçüde etkilemektedir. Gıdada canlılığını koruması büyük önem taşımaya karşın, yapılan çeşitli çalışmalar raf ömrü süresince ürünlerdeki probiyotik bakterilerin belli düzeylerde canlılığını yitirdiğine işaret etmektedir (Şener 2009).

Birçok faktör probiyotik bakterilerin ürün içinde canlılığını sürdürmesini etkileyebilmektedir. Bu faktörler arasında probiyotik bakteri türü, ortamın pH'sı, hidrojen peroksit ve çözünmüş oksijen varlığı, laktik asit ve asetik asit gibi metabolitlerin konsantrasyonu, aşılama miktarı, inkübasyon sıcaklığı ve süresi ile depolama koşulları yer almaktadır (Donkor vd 2006). Bu faktörlere bağlı olarak ortaya çıkan probiyotik

bakterilerin canlılığında ve stabilitesindeki azalma, çeşitli uygulamalarla önlenmeye ya da en aza indirilmeye çalışılmaktadır. Bu uygulamalar arasında gıdada kullanılmak üzere asit ve tuza dayanıklı suşların seçimi, oksijen geçirgenliği olmayan ya da düşük oksijen geçirgenliği olan ambalaj kullanımı (plastik ambalaj yerine cam ambalaj kullanımı gibi), iki basamaklı fermantasyon uygulanması, prebiyotik kullanımı, askorbik asit ilavesi ile stres adaptasyonunun sağlanması yer almaktadır (Şener 2009). Son yıllarda probiyotik mikroorganizmaların canlılığını geliştirmek üzere yapılan araştırmalar mikroenkapsülasyon ve bakterilerin stres koşullarına karşı direnç mekanizmalarının geliştirilmesi gibi konular üzerine yoğunlaşmıştır (Sanders ve Marco 2010).

Probiyotik bakteriler starter kültür üretim aşamasından başlayarak probiyotik ürünlerin üretiminde, taşınmasında, depolanmasında ve bu ürünlerin tüketimi sonucunda insan gastrointestinal sisteminden geçişinde çeşitli stres koşullarına maruz kalmaktadır (Wei-Yin Ng 2009). Söz konusu bu süreçte probiyotik bakteriler düşük ve yüksek sıcaklık, ozmotik basınç, oksidatif stres, mide asitliği ve safra tuzu gibi farklı pek çok stres faktörleriyle karşılaşabilmektedir (Corcoran vd 2008).

Probiyotik dondurma üretimi sırasında probiyotik bakteriler, temel olarak dondurma miksinin fermente edilmesi sonucu oluşan asitlik stresine, karıştırma işlemi süresince mekanik ve oksidatif strese, dondurma üretimi ile depolaması sırasındaki düşük sıcaklık stresine maruz kalmaktadır (Cruz vd 2009, Abghari vd 2011). Düşük sıcaklık stresi, probiyotik dondurma üretiminde karşılaşılan kaçınılmaz durumlardan biridir. Dondurma üretimi sırasında probiyotik bakterilerin gelişimi ve canlılığı çevre sıcaklığından olumsuz etkilenmektedir (Ferraz vd 2012).

Probiyotik bakterilerde dondurma işlemi sırasında meydana gelen değişiklikler şöyle sıralanabilmektedir:

- Sıcaklık düştükçe hücre içinde ve dışında donan su miktarı artmaktadır. Bunun sonucunda gıda ortamında (dondurmada) ve hücre içinde çözünen bileşen konsantrasyonu artış göstermektedir.
- Hücre içerisinde elektrolitlerin miktarı artmakta ve hücre içi pH'sında değişiklik olmaktadır.
- Hücredeki bileşenlerin kolloidal durumları değiştiği için hücre proteinlerinde denatürasyon meydana gelmektedir.
- Hücre içinde ve gıda ortamında oluşan buz kristalleri hücre zarının parçalanmasına, dolayısıyla bakterilerin canlılıklarını yitirmesine neden olmaktadır (Erkmen 2010).

Probiyotik bakterilerin dondurma üretiminde kullanılması ile ilgili yapılan çalışmalarda dondurma miksinde ilave edilen probiyotik bakteri konsantrasyonunun dondurma üretimi ve depolanması süresince düştüğü gözlemlenmiştir. Hekmat ve Mc Mahon (1992), *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* ile fermente ettikleri standart dondurma miksinden dondurma üretmişler ve mikroorganizmaların canlı olarak tüketicilere ulaştırılmasında, dondurmanın uygun bir gıda maddesi olup olmadığını belirlemeye çalışmışlardır. Çalışmada 17 hafta boyunca -29°C'de depolanan dondurmalarda β -galaktosidaz aktivitesi ile *L. acidophilus* ve *B. bifidum*'un canlılık durumları izlenmiştir. Dondurma işleminin uygulanmasından hemen sonra üründe bakteri sayımları yapılmış ve *L. acidophilus* sayısının 1.5×10^8 kob/g, *B. bifidum* sayısının ise

2.5x10⁸ kob/g olduğu tespit edilmiştir. Dondurma işleminden 17 hafta sonra bu sayılar düşüş göstermiş ve dondurma örneklerindeki *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayıları sırasıyla 4.0x10⁶ kob/g ve 1.0x10⁷ kob/g olarak tespit edilmiş olup β-galaktosidaz aktivitesinin ise 1800 ünite/ml'den 1300 ünite/ml'ye düştüğü belirlenmiştir. Aynı çalışmada tüketici tercihlerini belirlemek amacıyla dondurma miksleri, pH'ları 5.0, 5.5 ve 6.0 olmak üzere üç farklı pH değerinde hazırlanmıştır. Bütün örnekler %10 oranında çilek aroması ilave edildikten sonra 88 panelist tarafından değerlendirilen dondurmalarda tercih edilen pH değerinin 5.5 olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak probiyotik dondurmanın *L. acidophilus* ve *B. bifidum* gibi yararlı mikroorganizmaların alınmasında iyi bir kaynak olduğu belirtilmiştir.

Yapılan farklı bir çalışmada; *L. acidophilus*, *B. bifidum* ve her iki bakteri ile fermente edilmiş süt, %5 ve %10 oranlarında krema içeren dondurma miksine %10 oranında karıştırılarak dondurmaya işlenmiş ve dondurma örnekleri 90 gün boyunca -20°C'de depolanmıştır. Dondurma işleminden hemen sonra ve depolamanın 1., 15., 30., 45., 60., 75. ve 90. günlerinde dondurma örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri belirlenmiştir. Dondurma işleminden kısa bir süre sonra *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayılarında, dondurma miksine göre logaritmik olarak 0.20 ve 0.11 birimlik azalma olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın birinci gününde, dondurma örneklerindeki *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısının sırasıyla 7.1 log kob/g ve 6.9 log kob/g; depolamanın 90. gününde ise sırasıyla 6.8 log kob/g ve 6.7 log kob/g olduğu saptanmıştır. Probiyotik bakterilerin sayısındaki azalmanın özellikle dondurma işleminde bakterilerin canlılığını kaybetmesinden kaynaklandığı, bununla birlikte mekanik stresin ve oksijenin (oksidatif stresin) de probiyotik bakteri sayısında azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca çalışma sonucunda dondurma miksine ilave edilen krema miktarının dondurmaların mikrobiyolojik özellikleri üzerinde etkili olmadığı belirlenmiştir (Turgut ve Çakmakkı 2009).

Abghari vd (2011) yaptıkları bir çalışmada *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus*'un probiyotik dondurma üretiminde kullanım olanaklarını araştırmışlardır. Olgunlaştırma işleminden önce dondurma miksine *L. acidophilus* 3.6x10⁸ kob/g, *L. rhamnosus* 1.4x10⁹ kob/g olacak şekilde inoküle edilmiş ve hazırlanan mikslere fermente edilmeden direkt dondurmaya işlenmiştir. Üretilen dondurma örnekleri -19°C'de 12 hafta süresince depolanmıştır. Olgunlaştırma süresince probiyotik bakterilerin canlılık durumlarında herhangi bir değişim gözlenmezken; dondurma işleminden sonra logaritmik olarak *L. acidophilus*'un sayısında 0.28, *L. rhamnosus* sayısında ise 0.33 birimlik azalma olduğu saptanmıştır. 12 haftalık depolama periyodunun sonunda ise örneklerdeki *L. acidophilus* sayısının başlangıca göre yaklaşık 1 log azalma göstererek 2.7x10⁷ kob/g olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte örneklerdeki *L. rhamnosus* sayısında depolama süresince önemli bir azalma olmadığı tespit edilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, *L. acidophilus* La-5 ve *B. bifidum* Bb-12 probiyotik bakterileri ile fermente olmuş süt, dondurma miksine %10 (v/v) olacak şekilde aşılanmış ve aşılanan probiyotik bakterilerin dondurma işlemine dayanımları ve depolama süresince canlı kalma durumları incelenmiştir. Üretilen dondurmalar 12 hafta süresince -26°C'de depolanmıştır. Mikrobiyolojik analizler fermantasyondan sonra sütte, dondurmaya işlemeden önce mikste ve dondurma örneklerinde yapılmıştır. Çalışmada probiyotik

bakteri sayısının dondurma işlemi sırasında logaritmik olarak 1 birim azaldığı ve üretilen dondurmalarda *L. acidophilus*'un 7.5 log kob/g, *B. bifidum*'un 7.9 log kob/g, *L. reuteri*'nin 8.2 log kob/g, *L. gasseri*'nin 7.0 log kob/g ve *L. rhamnosus*'un da 7.8 log kob/g düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. Dondurma işlemi basamağındaki azalmanın, hücrelerin donması ve bazı hücrelerin ölmesi sonucu gerçekleştiği belirtilmiştir. Ayrıca karıştırma ve dondurma işlemleri kaynaklı mekanik stresin ve karışıma oksijen aktarımının da bakteri sayılarında azalmaya neden olduğu değerlendirilmiştir. 12 haftalık depolama periyodunun sonunda logaritmik olarak *L. acidophilus* sayısında yaklaşık 2.2, *B. bifidum*'da 1.7, *L. reuteri*'de 1.5, *L. gasseri*'de 1.2 ve *L. rhamnosus*'da 1.8 birimlik azalma olduğu saptanmıştır (Salem vd 2005).

Probiyotik bakterilerin gıda üretimi ve depolanması sırasında canlılığında ve stabilitesindeki azalmayı önlemek ve gıda ile birlikte alımından sonra bağırsaklara ulaşana kadar karşılaştıkları stres ortamlarına karşı dirençlerini arttırmak amacıyla çeşitli uygulamalar gerçekleştirilmektedir. Bu amaçla son yıllarda probiyotik bakterilerin stres koşullarına adaptasyonu ile ilgili çalışmalar önem kazanmıştır.

Bakteriler stres koşullarıyla (yüksek ve düşük sıcaklık, düşük asitlik, yüksek ozmotik basınç vs.) karşılaştıkları zaman maruz kaldıkları stres koşuluna karşı farklı direnç mekanizmaları geliştirmektedir. Bakteriler, geliştirdikleri mekanizmalar ile olumsuz koşullara ve ani çevresel değişikliklere karşı uyum gösterebilmektedir. Stres koşulları altında bakterilerde meydana gelen bu fizyolojik değişiklikler strese adaptasyon (yanıt) olarak adlandırılmaktadır (Van De Gutche vd 2002, Streit vd 2007). Gıdaların işlenmesi sırasında veya tüketiminden önce bakterilerin ölüm eşiği altındaki (sublethal) stres koşullarına maruz kalması bakterilerde strese yanıtı tetiklemekte ve böylelikle bakteriler uygulanan strese adaptasyon sağlayarak canlılıklarını koruyabilmektedir (Corcoran vd 2008).

Sublethal düşük sıcaklık stresinin, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (M392, M474, 712) ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (M126, M149, M179) suşlarının, *Pediococcus pentosaceus* PO2, *Lactobacillus helveticus* LB1 ile *Streptococcus thermophilus* TS2'nin dondurma işleminden sonra canlı kalma düzeyleri üzerine etkisinin incelendiği bir araştırmada *L. lactis* subsp. *lactis* suşları, *L. lactis* subsp. *cremoris* suşları ile *S. thermophilus* TS2 30°C'de; *P. pentosaceus* PO2 ve *L. helveticus* LB1 ise 37°C'de OD₆₀₀ (optik yoğunluk) değeri 0.2-0.3'e ulaşıncaya kadar geliştirilerek 10°C'de 2 ile 5 saat sublethal düşük sıcaklık stresi uygulandıktan sonra -20°C'de 24 saat tutulmuşlardır. 24 saat sonunda yapılan sayım sonuçlarına göre 10°C'de 2 saat düşük sıcaklık stresine maruz bırakılan *L. lactis* subsp. *lactis* (M392, M474, 712) ve *P. pentosaceus* PO2'nin canlı kalma oranı sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanmamışlara göre önemli düzeyde yüksek bulunurken, *L. lactis* subsp. *cremoris* (M126, M149, M179) suşlarının ve *S. thermophilus* TS2'nin canlı kalma oranı değişmemiştir. Uygulanan sublethal düşük sıcaklık stresinin süresi 5 saate çıkarıldığında *L. lactis* subsp. *lactis* suşları, *L. lactis* subsp. *cremoris* M149, *P. pentosaceus* PO2 ve *L. helveticus* LB1'in canlı kalma oranının sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanmamışlara göre yüksek olduğu belirlenmiştir (Kim ve Dunn 1997).

Yapılan başka bir çalışmada 25°C'de 72 saat ve 37°C'de 24 saat süre ile geliştirilen *Lactobacillus acidophilus* CRL639, -20°C'de 24 saat tutulduktan sonra

37°C’de 5 dakikada süre bekletilerek çözündürülmüştür. Çözündürme sonrası yapılan mikrobiyolojik analizlerde 25°C’de geliştirilen *L. acidophilus*’un %77 oranında canlılığını koruduğu, 37°C’de geliştirilen örneklerin ise canlılıklarını %7 oranında koruyabildiği tespit edilmiştir (Lorca ve De Valdez 1998).

2.1. Düşük Sıcaklık Stresine Karşı Adaptasyon Mekanizmaları

Optimal gelişme sıcaklıkları dikkate alındığında, probiyotik bakteriler hem mezofilik hem de termofiliktir. Endüstriyel süreçlerde probiyotik bakteriler, starter kültürlerin dondurularak depolanması, peynir olgunlaşması sırasında düşük sıcaklıkta gerçekleşen fermantasyon ve bazı probiyotik ürünlerin dondurularak depolanması gibi optimum gelişme sıcaklıklarının çok aşağısındaki sıcaklıklara maruz kalmaktadır. Probiyotik bakterilerin dondurma işlemi sırasında ve düşük sıcaklıklarda canlı kalması, suşların endüstriyel performansına katkıda bulunmaktadır (Gündüz 2010). Dondurma ve çözündürme ile bakterilerin ölümü öncelikle hücre zarının zarar görmesine ve DNA’nın denatürasyonuna dayandırılmaktadır. Bakterilerin düşük sıcaklıklara adaptasyonu hücredeki protein sentezinin artması ve hücre zarındaki yağ asidi bileşiminin değişmesiyle gerçekleşmektedir (Ergin 2012).

2.1.1. Protein Sentezindeki Değişimler

Bakterilerin düşük sıcaklık stresine karşı sentezlediği proteinler genellikle soğuk şok proteinleri (Csp) olarak adlandırılmalarına karşın, büyüklüklerine ve düşük sıcaklığın organizmaya uygulanış yöntemine göre soğuk ortama adaptasyon proteinleri (Caps) ya da soğukla uyarılmış proteinler (Cips) olarak adlandırılmaktadır. Csp’ler ani sıcaklık düşüşlerinde hızlı bir şekilde geçici olarak uyarılırken, Caps düşük sıcaklıklarda gelişim süresince sentezlenmektedir. Cips molekül ağırlığı genellikle 10 kDa’dan büyük Csp’lerdir. Laktik asit bakterilerinde düşük sıcaklığa yanıt üzerine yapılan araştırmalar tamamen Csp’ler üzerine odaklanmıştır. Csp’ler, bakteri hücresinde birçok işlevi yerine getirmektedir. Düşük sıcaklık stresi sonucunda bakteride genetik aktarımı ve protein sentezini sağlayan replikasyon, transkripsiyon ve translasyon işlemlerini engelleyen DNA ve RNA’nın ikincil yapıları oluşmaktadır. Csp’ler, bakteri DNA ve RNA’sının ikincil yapılarının oluşumunu engellemek ve transkripsiyonu kolaylaştırmak için geçici olarak sentezlenen küçük proteinlerden oluşmaktadır (Girgis vd 2003).

Yapılan çalışmalarda *E. coli*’de soğukla indüklenebilen 16 protein bulunmuş ve bu proteinlerden 12 tanesi tanımlanmıştır. Bunlar; CspA ailesi ile birlikte RecA, H-NS, GyrA, NusA, PNP, Hsc66, Hsp70, IF2, CsdA ve RbfA’dır. CspA ailesi; üyeleri 69 ile 74 amino asitten oluşan, izoelektrik noktaları 5.53-10.72 arasında değişen ve β -barrel yapıda dokuz (CspA-CspI) proteinden oluşmaktadır (Thieringer vd 1998, Yamanaka 1998, Trevors vd 2012). CspA’nın en önemli özelliklerinden biri de yapısında iki adet RNA bağlama bölgesi (RNP1 ve RNP2) içermesidir. Bu özellik sayesinde RNA ve DNA’nın tek iplikçilerine bağlanabilmekte ve RNA şaperonu olarak işlev gösterebilmektedir. *E. coli*’de bulunan CspA ailesi üyelerinden dördü (CspA, CspB, CspG ve CspI) soğukla sentezlenmekteyken; CspD durma evresinin başında besin yetersizliğinde, CspC ile CspE ise 37°C’de normal gelişim süresince sentezlenmektedir. CspH ve CspF’nin ne zaman sentezlendiği ve görevleri tam olarak bilinmemektedir. Bu proteinler, optimum gelişme sıcaklığında ve düşük sıcaklıklarda tek tek ya da birlikte hücrenin canlılığına ve gelişimine katkı sağlamaktadır (Derzelle vd 2000). Bununla birlikte Csp’ler ve diğer benzer

proteinler, bazı laktik asit bakterilerinde de tespit edilmiş ve tanımlanmıştır (Van De Gutche vd 2002).

Wouters vd (1999 a) yaptıkları bir çalışmada, sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanmış *Lactococcus lactis* MG1363'ün dondurma-çözündürme işlemi sonunda canlı kalma düzeyini ve protein sentez miktarlarını incelemişlerdir. Araştırmacılar, çoğalma evresinin ortasına kadar 30°C'de M17 besiyerinde geliştirilen *L. lactis* MG1363'ü 4, 10, 20°C'lerde 2 ile 4 saat sublethal düşük sıcaklık stresine maruz bırakmış ve -20°C'de 24 saat tutmuşlardır. Çalışmada, 10°C'de 2 saat sublethal düşük sıcaklık stresine maruz bırakılmış *L. lactis* MG1363'ün sayısı sublethal stres uygulanmamış *L. lactis* MG1363'e göre 10 kat daha fazla bulunurken, 10°C'de 4 saat sublethal stres uygulanmış *L. lactis* MG1363'ün sayısının stres uygulanmamışa göre 100 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte 30°C'de geliştirilen *L. lactis* MG1363'de toplam sentezlenen protein miktarı içinde yaklaşık %0.1 CspD ve %1.6 CspE saptanırken, CspA, CspB, CspC ve CspF tespit edilememiştir. 10°C'de 4 saat sublethal stres uygulanmış *L. lactis* MG1363'de ise toplam sentezlenen protein miktarı içinde CspB yaklaşık %1.5, CspD %3.5, CspE %3.1 ve CspF %1.7 oranında belirlenirken, CspA ile CspC saptanamamıştır. Ayrıca *L. lactis* MG1363'e sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanması sırasında besiyeri ortamına protein sentezini engelleyen chloramphenicol (100 µg/ml) ilave edildiğinde, dondurma-çözündürme işlemi sonunda *L. lactis* MG1363'ün canlı kalma düzeyinde sublethal stres uygulanmamış *L. lactis* MG1363'e göre herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Çalışmada, adaptasyon mekanizması için protein sentezinin gerekli olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Lactococcus lactis subsp. *lactis* (LL40-1, LL41-1, LL43-1) ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (LC10-1, LC11-1, LC12-1) suşlarının stres koşullarına adaptasyonunun incelendiği bir çalışmada, çoğalma evresindeki bakteriler 10°C'de 2 saat sublethal düşük sıcaklık stresine maruz bırakıldıktan sonra -20°C'de 24 saat tutulmuştur. 30°C'de çoğalma ve durma evresine kadar geliştirilerek dondurma işlemi uygulanan bakteri suşları ile sublethal düşük sıcaklık stresine maruz bırakıldıktan sonra dondurma işlemi uygulanan bakteri suşlarının canlı kalma düzeyleri karşılaştırılmıştır. 30°C'de geliştirilen *L. lactis* subsp. *lactis* ve *L. lactis* subsp. *cremoris* suşları dondurma işleminden sonra canlılıklarını önemli düzeyde kaybetmiştir. Bununla birlikte dondurma işlemi sonunda sublethal düşük sıcaklık stresine maruz bırakılan *L. lactis* subsp. *lactis* suşlarının tümünde canlı kalma düzeyinin 30°C'de geliştirilen *L. lactis* subsp. *lactis* suşlarına göre daha fazla olduğu tespit edilirken, sublethal düşük sıcaklık uygulamasının *L. lactis* subsp. *cremoris* suşlarının canlı kalma düzeyini etkilemediği belirlenmiştir. 30°C'de durma evresine kadar geliştirildikten sonra -20°C'de 24 saat tutulan *L. lactis* subsp. *cremoris* LC12-1 suşu dışındaki bütün suşların canlı kalma düzeyinin, 30°C'de çoğalma evresine kadar geliştirilen suşlara göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (Kim vd 1999).

S. thermophilus CNRZ302 suşunun düşük sıcaklığa karşı verdiği yanıt ve Csp sentezinin incelendiği bir çalışmada; 42°C'de çoğalma evresinin ortasına (OD₆₀₀=0.5) kadar geliştirilen bakteriye, 10°C ve 20°C'de 2 ile 4 saat sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanmıştır. Uygulamadan sonra *S. thermophilus* CNRZ302, -20°C'de 24 saat tutulmuş ve 30°C'de 4 dakika süre ile çözündürülmüştür. *S. thermophilus* CNRZ302'nin canlılık durumunun incelenmesi amacıyla, sublethal düşük sıcaklık stresi uygulamasından ve dondurma-çözündürme işleminin art arda 4 kez uygulanmasından

sonra mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanmayan *S. thermophilus* CNRZ302'nin dondurma-çözündürme işlemlerinden sonra canlı kalma oranı %0.01 olarak belirlenmiştir. Çalışmada, 20°C'de 2 saat süre ile sublethal stres uygulanan *S. thermophilus* CNRZ302'nin canlı kalma oranı sublethal stres uygulanmayan *S. thermophilus* CNRZ302'ye göre 100 kat daha fazla tespit edilirken, 20°C'de 4 saat sublethal strese maruz bırakılan *S. thermophilus* CNRZ302'nin canlı kalma oranının sublethal stres uygulanmayan *S. thermophilus* CNRZ302'ye göre 1000 kat daha fazla olduğu ortaya konulmuştur. Bununla birlikte 10°C'de 2 ve 4 saat süre ile sublethal stres uygulandığında *S. thermophilus* CNRZ302'nin canlı kalma oranının sublethal stres uygulanmayan *S. thermophilus* CNRZ302'ye göre sırasıyla 5 ve 10 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Sublethal stres uygulaması sırasında gelişim ortamına protein sentezini engelleyen chloramphenicol (100 µg/ml) ilave edilmesinin *S. thermophilus* CNRZ302'nin düşük sıcaklığa olan adaptasyonunu engellediği, dolayısıyla adaptasyon işlemi için protein sentezinin gerekli olduğu belirtilmiştir. 20°C'de 2 ve 4 saat sublethal stres uygulaması ile sırasıyla 14 ve 18 adet Csp'nin sentezlendiği belirlenirken, 10°C'de 4 saat sublethal stres uygulamasından sonra 4 adet Csp'nin sentezlendiği saptanmıştır. Çalışmadaki tüm sublethal koşullarda sentezlenen Csplerden sadece üçünün aynı olduğu tespit edilmiştir (Wouters vd 1999 b).

2.1.2. Hücre Zarındaki Değişimler

Düşük sıcaklık stresine karşı bakterilerin verdiği diğer bir yanıt, hücre zarındaki yağ asidi bileşiminin değişimidir. Dondurma sonrası bakteri hücresinin canlılığını hücre zarının bütünlüğü ve makromoleküllerin denatürasyonu belirlemektedir (De Angelis ve Gobbetti 2004). Bakteriler düşük sıcaklıklara maruz kaldıklarında hücre zarları katılaşmakta ve temel işlevlerini (taşıma, enerji üretimi, hücre bölünmesi) yerine getirememektedir. Bu nedenle bakterilerin, düşük sıcaklıklara adaptasyonu için hücre zarlarının akışkanlığını arttırmaları gerekmektedir. Bakteriler; hücre zarındaki uzun ve kısa zincirli yağ asitlerinin oranını, yağ asitlerinin doymamışlık oranını, yağ asitlerinin cis-trans oranlarını, karotenoid oranını, polar grupların büyüklüklerini ve yüklerini değiştirerek hücre zarlarının akışkanlığını arttırabilmektedir. Ancak söz konusu bu değişimler karşılaştırıldıklarında, yağ asitlerinin doymamışlık oranı ve izomerizasyonlarının değişimi ile karotenoid bileşimlerindeki değişim düşük sıcaklıklarda hücre akışkanlığını korumada daha önemli yer tutmaktadır (Shivaji vd 2010).

Doymamış yağ asidi grupları hücre zarının akışkanlığını arttırmaktadır. Çünkü doymamış yağ asitleri doymuş yağ asitlerine göre hücre zarının yapısını daha düzensiz hale getirmektedir. Bakteri, hücre zarının yapısında bulunan doymuş yağ asitlerinin doymamış yapıya dönüştürülmesi ile düşük sıcaklığa karşı hızlı tepki verilebilmektedir. Hücre zarının akışkanlığını arttırabilecek değişimlerden biri de yağ asidi zincirlerinin uzunluğunun azalmasıdır. Kısa zincirli yağ asitlerinde daha az sayıda C-C bağı bulunması ve erime sıcaklıklarının uzun zincirli yağ asitlerine göre daha düşük olması zar akışkanlığının sürdürülmesinde etkili olmaktadır (Beales 2003).

Murga vd (2000) yaptıkları bir çalışmada, farklı sıcaklıklarda geliştirilen *L. acidophilus* CRL640 suşunun dondurma-çözündürme sırasında davranışları ile hücre zarındaki yağ asidi bileşimleri karşılaştırılmıştır. *L. acidophilus* CRL640, 25°C'de 72 saat

(M25), 30°C’de 24 saat (M30), 37°C’de 18 saat (M37) ve 40°C’de 16 saat (M40) inkübe edilerek durma evresine kadar geliştirilmiştir. Durma evresindeki *L. acidophilus* CRL640, -20°C’de 24 saat tutulduktan sonra 37°C’de 5 dakika süre ile çözündürülmüştür. Dondurma-çözündürme işleminden önce ve sonra *L. acidophilus* CRL640’ın dondurma işlemine direnci ve hücre zarındaki yağ asidi bileşimi belirlenmiştir. Farklı sıcaklıklarda geliştirilen *L. acidophilus* CRL640’ın dondurma-çözündürme işleminden sonra canlı kalma oranları M25 için %67, M30 için %23, M37 için %16 ve M40 için %14 olarak saptanmıştır. Gelişme sıcaklığı 25°C olanın dışındaki *L. acidophilus* CRL640’ların yağ asidi bileşimleri benzer bulunmuştur. Dondurma-çözündürme işleminden sonra M25 ile M37 örnekleri karşılaştırıldığında M25’in hücre zarında hekzadekanoik asit (C 16:0) oranı 2 kat, oktadekadienoik asit (C 18:2) oranı 5 kat daha fazla bulunurken, 10 hidroksioktadekanoik asit (C 18:0, 10-OH) ve cyc 19:0 asit oranının ise 2 kat düşük olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, 25°C’de gelişen *L. acidophilus* CRL640’ların dondurma-çözündürme işlemine karşı dirençli olmasının temel nedeninin C 16:0 ve C 18:2 yağ asitlerinde meydana gelen artış olduğu sonucuna varılmıştır.

Zavaglia vd (2000) *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*’un CIDCA331, CIDCA332 ve CIDCA333 suşlarının, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*’in CIDCA132 ve CIDCA133 suşlarının ve *L. acidophilus* CIDCA134 suşunun dondurma-çözündürme işlemi sonunda hücre zarlarındaki yağ asidi bileşimini incelemişlerdir. Çalışmada bakteriler durma evresine kadar geliştirildikten sonra -20°C’de dondurulup 37°C’de 5 dakika süre ile çözündürülmüştür. Bakterilere aynı koşullarda ikinci kez dondurma-çözündürme işlemi uygulanmıştır. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDDA332 dışındaki bakterilerin hücre zarlarındaki yağ asidi bileşimi benzer bulunmuştur. C14:0, C16:0, C16:1, C18:1 ve cyc 19:0 yağ asitlerinin. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDDA332 dışındaki bakterilerin hücre zarlarındaki yağ asidi bileşiminin %90’ını oluşturduğu saptanmıştır. Bunun yanında bazı suşların hücre zarlarında az miktarda C12:0, C14:1, C15:0, C17:0, C17:1 ve C18:0 yağ asitleri tespit edilmiştir. Dondurma-çözündürme işlemlerinden sonra *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA331, CIDCA332 ve CIDCA333 suşlarının, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* CIDCA132 ile CIDCA133 suşlarının ve *L. acidophilus* CIDCA134’ün hücre zarında doymamış yağ asitlerinin oranı sırasıyla %42.8, %43.0, %48.8, %66.8, %70.2 ve %46.3 olarak belirlenirken, cyc 19:0 yağ asidi oranları sırasıyla %14.0, %27.2, %12.8, %1.5, %2.5 ve %15.5 olarak tespit edilmiştir. cyc 19:0 yağ asidi oranı suşlara göre oldukça farklılık göstermiştir. Çalışmanın sonucunda; düşük doymamış yağ asidi oranına sahip bakteri suşlarının, dondurma-çözündürme işlemine karşı direnç gösterebilmeleri için hücre zarlarında cyc 19:0 yağ asidi oranını arttırdığı ortaya konulmuştur.

Farklı sıcaklıklarda (25°C ve 37°C) geliştirilen *L. acidophilus* CRL640’ın dondurma-çözündürme sonrası hücre zarı stabilitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada 37°C’de gelişen *L. acidophilus* CRL640’ın dondurma işlemine karşı daha duyarlı olduğu ve dondurma işlemi sırasında *L. acidophilus* CRL640 sayısının %87 oranında azaldığı tespit edilmiştir. 25°C’de geliştirilen *L. acidophilus* CRL640’ın sayısının ise dondurma işleminden sonra %33 oranında azaldığı belirlenmiştir. 25°C’de geliştirilen *L. acidophilus* CRL640’ın hücre zarında kardiolipin ve triglikozidilgliserit kısımları azalmıştır. Bununla birlikte kardiolipin, diglikozidilgliserit ve fosfatidilgliserol kısımlarında bulunan C16:0 ile C 18:2 metil esterinin oranı sırasıyla 2 ve 5 kat artarken, nötral lipit ve kardiolipin kısımlarında bulunan cyc 19:0 ve C18:0, 10-OH asit miktarları

azalmıştır. Çalışma sonunda sublethal düşük sıcaklığa maruz bırakılan bakterinin donma işlemine karşı direncinin arttığı tespit edilmiştir (Murga vd 2001).

Probiyotik bakterilerin strese karşı oluşturdukları yanıt kullanılarak olumsuz koşullarda canlılıklarını devam ettirmeleri ve teknolojik özelliklerinin geliştirilmesi sağlanabilmektedir. Probiyotik bakterilerin canlılıklarını geliştirmede, strese olan adaptasyonlarının yanısıra çapraz koruma yanıtlarından da yararlanılabilmektedir. Bir strese karşı adaptasyon sırasında başka bir strese karşı da dirençlilik oluşmasına çapraz koruma denilmektedir (Dikici 2009). Çapraz korumada bakterinin istenilen strese (düşük sıcaklık vs.) karşı direnç gösterebilmesi için bakteri farklı bir stres koşuluna (yüksek sıcaklık vs.) sublethal düzeyde maruz bırakılmaktadır. Bu şekilde istenilen stres koşuluna karşı dayanıklılığın artması hedeflenmektedir (Streit vd 2007).

Bakterilere uygulanan birçok sublethal stres koşulu (yüksek ve düşük sıcaklık, düşük asitlik, ozmotik basınç stresi, oksidatif stres) çapraz korumayı etkin hale getirmektedir. Bakterilerin strese maruz kaldıklarında sentezledikleri bazı proteinlerin sadece uygulanan stres koşuluna karşı direncin gelişmesini sağladığı, sentezledikleri bazı proteinlerin ise farklı stres koşullarına da direncin sağlanmasında etkin rol oynadığı belirtilmektedir. Isıl şok proteinlerinin yüksek tuzluluk, alkol ve organik asit gibi diğer stres koşulları altında da sentezlendiği bildirilmektedir (Kim vd 2001, Wei-Yin Ng 2009).

Walker vd (1999) yapmış oldukları çalışmada *Lactobacillus johnsonii*'nin sublethal sıcaklık stresine adaptasyonundan sonra düşük sıcaklıklara karşı direncindeki değişimini araştırmışlardır. 37°C'de OD₅₉₀=0.6 değerine kadar geliştirilen *L. johnsonii* 55°C'de 15, 30 ve 45 dakika sublethal sıcaklık stresine maruz bırakıldıktan sonra -20°C'de 7 gün depolanmıştır. Belirtilen sıcaklık-süre kombinasyonundaki stres uygulamalarından ve dondurma işleminden sonra sayım yapılmıştır. 55°C'de 45 dakikalık ısıl işleminden sonra *L. johnsonii* sayısının, 37°C'de 45 dakika tutulan *L. johnsonii* sayısına göre logaritmik olarak 1.5 birim düşük olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte -20°C'de 7 gün depolanmanın sonunda 55°C'de 30 dakika ısıl adaptasyonu sağlanan *L. johnsonii*'nin canlı kalma oranı 37°C'de 30 dakika tutulan *L. johnsonii*'ye göre %10 daha fazla tespit edilirken, 55°C'de 45 dakika ısıl adaptasyonu sağlanan *L. johnsonii*'nin canlı kalma oranının 37°C'de 45 dakika tutulan *L. johnsonii*'ye göre yaklaşık %20 daha fazla olduğu saptanmıştır. Dondurma işlemi sonunda en yüksek canlı kalma düzeyine 55°C'de 45 dakika sublethal sıcaklık stresi uygulanan *L. johnsonii*'de ulaşılmış ve ısıl adaptasyonun düşük sıcaklık stresine karşı çapraz koruma sağladığı belirlenmiştir. Bu korumanın ısıl adaptasyon sırasında hücrede ısıl şok proteinlerinin (GroESL) sentezlenmesi sonucunda sağlandığı ortaya konulmuştur.

2.2. Yüksek Sıcaklık Stresine Karşı Adaptasyon Mekanizmaları

Yüksek sıcaklık stresi, hücrenin mikrobiyal aktivitesini ve gelişmesini sağlayan birçok bölgesini olumsuz şekilde etkilemektedir. Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bakterilerde kolay hasar görebilen yağ asitlerini bulunduran hücre zarı zarar görmektedir. Hücre zarının zarar görmesiyle birlikte hücrenin genetik materyali olumsuz etkilenmekte ve proteinler denatüre olarak kümeleşmektedir (Serrazanetti vd 2009, Smith vd 2013). Denatürasyon sırasında proteinlerin konformasyonel yapısını oluşturan bazı bağlar

parçalanmakta ve böylece protein katlanmış şeklini koruyamayarak düz şekil almaya başlamaktadır (Anonim 2013).

Probiyotik bakteriler hücredeki proteinlerin korunmasını, yeni sentezlenen proteinlerin katlanmasını, katlanmamış ya da kısmen katlanmış proteinlerin katlanmasını ve elverişsiz koşullar altında düzeltilemeyecek kadar hasar görmüş proteinlerin hücreden atılmasını sağlayan mekanizmalara sahiptir. Bu mekanizmalardan birini oluşturan moleküler şaperonlar; translasyon (protein oluşum basamağı) sırasında ve sonrasında yeni sentezlenen proteinlerin katlanması, sıcaklık stresi süresince protein kümeleşmesinin önlenmesi ve yüksek sıcaklık stresi sonucunda hasar gören ya da katlanmayan proteinlerin onarımı gibi birçok işleve sahiptir (Sugimoto vd 2008, Varmanen ve Savijoki 2011). Şaperonlar, stres koşullarının olmadığı durumlarda sentezlenseler de çoğunlukla hatalı katlanmış hücresel proteinlerin artmasına neden olan yüksek sıcaklık stresine ve diğer stres koşullarına bağlı olarak sentezlenmektedir. Bundan dolayı birçok şaperon, sıcaklık şok proteinleri (HSPs) ya da strese duyarlı protein olarak adlandırılmaktadır (Han vd 2008, Wei-Yin NG 2009)

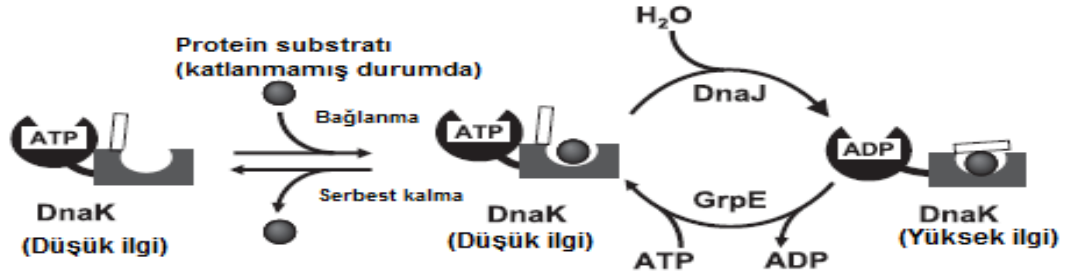
HSPs, gram negatif ve gram pozitif bakterilerde yüksek sıcaklık stresi süresince farklı sistemlerin kontrol ettiği genler tarafından düzenlenmektedir. Yapılan fizyolojik çalışmalarda, laktik asit bakterilerinde bulunan sıcaklık şok proteinlerinin gram pozitif bakterilerde bulunan sıcaklık şok proteinleri ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (De Guethe vd 2002). HSPs, gram pozitif bakterilere model olarak gösterilen *Bacillus subtilis*'te düzenlenme şekillerine göre dört genel sınıfta tanımlanmaktadır (De Angelis ve Gobetti 2004). Buna göre, I. sınıf genler GroE ve DnaK operonlarını (tek bir operatör tarafından kontrol edilen gen grubu) içermekte ve HrcA baskılayıcı proteininin CIRCE olarak adlandırılan operatör bölgesine bağlanması ile kontrol edilmektedir. DnaK operonu I. sınıf sıcaklık şok genlerinin ilk gen ürünüdür. II. sınıf genler, *B. subtilis*'te bulunan sigma B faktörünün kontrolü altındaki genleri içermektedir. Bu genlerin sentezi ve aktivitesi stres koşulları altında artmaktadır. III. sınıf genler, CIRCE operatör bölgesinden ve sigma B faktöründen bağımsız olarak tanımlanmaktadır. Bu sınıfın üyeleri clpC, clpE, ve clpP operonlarıdır. III. sınıf genlerin transkripsiyonu (DNA'dan RNA'ya genetik bilginin aktarımı) CtsR olarak adlandırılan baskılayıcı protein tarafından düzenlenmektedir. IV. sınıf genler; HrcA, sigma B, CtsR ve diğer tanımlanmış düzenleme mekanizmalarından bağımsız olarak sentezlenmektedir. Söz konusu sınıfa ait stres genlerine ftsH, IonA ve htpG örnek verilmektedir (Girgis vd 2003, Suokko 2008). Probiyotik bakteriler DnaK-DnaJ-GrpE ve GroES-GroEL şaperonları tarafından oluşturulmuş iki kompleks şaperon sistemine, HSPs'den daha küçük molekül ağırlıklarına sahip küçük sıcaklık şok proteinlerine (sHSPs) ve şaperonlar tarafından düzeltilemeyen zarar görmüş proteinlerin parçalanarak hücre dışına atılmasını sağlayan protezlara sahiptir.

2.2.1. DnaK-DnaJ-GrpE Şaperon Sistemi

DnaK şaperonu, 44 kDa molekül ağırlığına sahip NH₂ terminal ATPaz bölgesi ve 25 kDa molekül ağırlığına sahip COOH terminal bölgesi ile her iki bölgenin ortasında bulunan 15 kDa molekül ağırlığına sahip iyi korunmuş substrat bağlanma bölgesinden oluşmaktadır (Bukau ve Horwich 1998). DnaK şaperonunun stres koşulları altında doğal konformasyonel yapısı bozulmuş proteinleri düzenlemedeki rolleri; protein

kümeleşmesinin önlenmesini, proteinlerin doğal katlanma şekillerinin tanınmasını ve kümeleşmiş proteinleri çözerek tekrar doğal konformasyonel yapılarına katlanmasını sağlamaktır (Mayer ve Bukau 2005).

In vitro analizler DnaK'nın şaperon aktivitesini gösterebilmesi için ATP'ye ihtiyaç duyduğunu (Şekil 2.1) ve bu aktivitenin DnaJ ile GrpE tarafından düzenlendiğini ortaya koymuştur (Al-Mahin vd 2010, Hu vd 2013).



Şekil 2.1. DnaK-DnaJ-GrpE şaperon sisteminin çalışma mekanizması (Sugimoto vd 2008).

Lactobacillus plantarum LP-Onlly'nin yüksek sıcaklık stresine yanıtının araştırıldığı bir çalışmada, 37°C'de çoğalma evresinin ortasına (OD₆₂₀=0.55) ve durma evresine (OD₆₂₀=1.95) kadar geliştirilen *L. plantarum* LP-Onlly sıcaklık stresine karşı adaptasyonun sağlanması amacıyla 45°C'de 30 dakika MRS-Thio sıvı besiyeri içinde tutulduktan sonra söz konusu bakteri 55°C'de 15 dakika yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılmıştır. Çalışmada 37°C'de çoğalma evresinin ortasına ve durma evresine kadar geliştirildikten sonra sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmış ve sağlanmamış bakterilerin yüksek sıcaklık stresine maruz kaldıktan sonraki canlılık düzeyleri karşılaştırılmıştır. Çoğalma evresinin ortasına kadar geliştirildikten sonra 45°C'de sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmış bakterilerin canlı kalma düzeyinin sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmamış bakterilere göre 1.6 log daha yüksek olduğu saptanmıştır. Durma evresine kadar geliştirildikten sonra 45°C'de sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmış bakterilerin canlı kalma düzeyinin ise sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmamış bakterilere göre 1.0 log daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çoğalma ve durma evrelerinde sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmış *L. plantarum* LP-Onlly'de yapılan RT-PCR (gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) analizi sonucunda DnaK ve DnaJ sentez düzeyinin çoğalma evresinde durma evresine göre yaklaşık 2 kat, GrpE'nin 3.5 kat, GroES'in 1.5 kat fazla olduğu tespit edilirken GroEL'in sentez düzeyinin ise her iki evrede de aynı olduğu belirlenmiştir (Liao vd 2010).

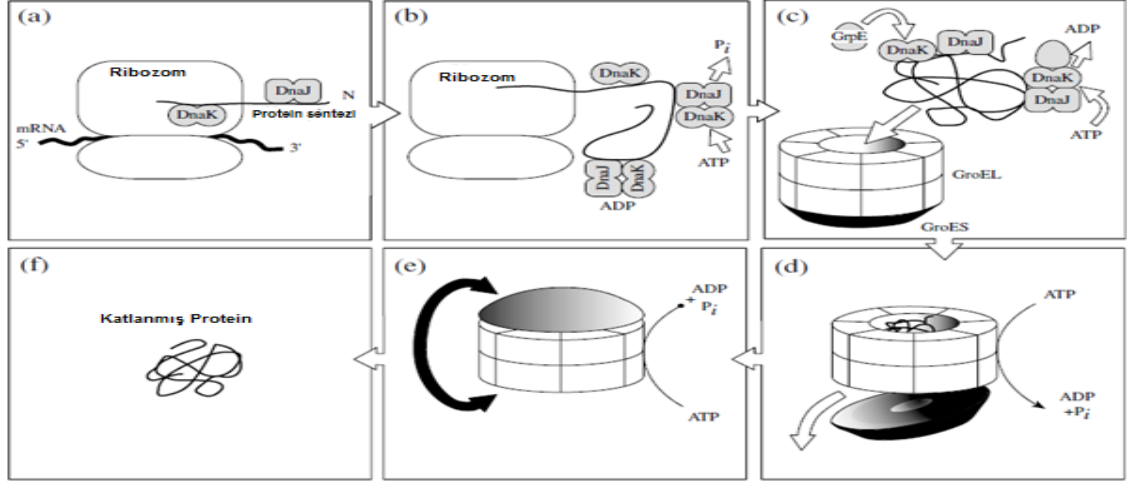
Yüksek sıcaklık stresinin *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RD 546'nın canlılığına ve protein sentez düzeyine olan etkisinin incelendiği bir çalışmada, söz konusu bakteriye 65°C'de 50 dakika yüksek sıcaklık stresi uygulanmıştır. Çalışmada yüksek sıcaklık uygulamasının 10. dakikasında *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RD 546 sayısının başlangıca göre yaklaşık 7 log düşüş gösterdiği, 10 ile 20. dakikalar arasında ise *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RD 546'nın yüksek sıcaklık stresine adaptasyon sağlayarak sayısının 10. dakikadaki sayıya göre yaklaşık 3 log arttığı belirlenmiştir. 20

ile 50. dakikalar arasında ise *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RD 546 sayısının tekrar düşüş gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca 10 ile 20. dakikalar arasında *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RD 546 sayısındaki artışa paralel olarak DnaK ve GroEL şaperonlarının sentezinde artış olduğu tespit edilmiştir (Gouesbet vd 2002).

2.2.2. GroES-GroEL Şaperon Sistemi

GroES-GroEL şaperon sistemi, yeni sentezlenmiş proteinlerin katlanmasında ve maruz kalınan sıcaklık stresi süresince denatüre olarak yapıları bozulmuş proteinlerin tekrar katlanmasında önemli rol oynamaktadır. Bu sistem HrcA baskılayıcı proteininin CIRCE olarak adlandırılan operatör bölgesine bağlanması ile kontrol edilmektedir (Corcoran vd 2008). GroEL şaperonu GroES ile birlikte ATP varlığında düzenlenen katlanma işlevini yerine getirmektedir. GroEL şaperonu, iki iç oyuktan oluşan ve her oyukta yedi alt birim bulduran varile benzer tetradekamerik bir yapıdan oluşmaktadır (Falke vd 2001). Şekil 2.2’de görüldüğü üzere yapısı bozulmuş protein ATP kullanarak GroEL şaperonunun oyuğuna tutunmaktadır. Daha sonra GroES şaperonu bu oyuğun üstünü kubbe şeklinde kaplamakta ve böylece korumalı bir ortamda proteinler doğal konformasyonel yapılarına katlanmaktadır (Weissman vd 1996, Richter vd 2010). Eğer ortamda yeterli miktarda ATP bulunmaz ise GroEL şaperonuna bağlı protein katlanamamaktadır (Vorob’eva 2004).

Lactobacillus rhamnosus HN001’in yüksek sıcaklık stresine adaptasyonunun akışkan yataklı kurutucuda gerçekleşen kurutma işleminden sonraki canlı kalma düzeyine etkisinin incelendiği bir çalışmada, 37°C’de çoğalma evresinin ortasına ($OD_{610}=0.7$) ve durma evresine ($OD_{610}=1.6$) kadar geliştirilen *L. rhamnosus* HN001’e MRS sıvı besiyeri içinde 50°C’de 30 dakika yüksek sıcaklığa karşı adaptasyon işlemi uygulanmıştır. Yüksek sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmış ve sağlanmamış *L. rhamnosus* HN001, 0.1 M fosfat tamponu içeresine aktarıldıktan sonra akışkan yataklı kurutucuda kurutulmuş ve 30°C’de 14 hafta süresince depolanmıştır. Depolama süresinin sonunda durma evresinde yüksek sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmış *L. rhamnosus* HN001’in canlılık düzeyinde 1.6 log, çoğalma evresinin ortasında yüksek sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmış *L. rhamnosus* HN001’in canlılık düzeyinde 4.2 log azalma görülürken, çoğalma evresinin ortasında yüksek sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmamış kontrol örneğinde ise 7.3 log birimlik azalma saptanmıştır. Ayrıca çalışmada, yüksek sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmış çoğalma evresinin ortasındaki ve durma evresindeki *L. rhamnosus* HN001 ile aynı evrelerdeki yüksek sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmamış *L. rhamnosus* HN001’in protein sentez düzeyleri birbirleriyle karşılaştırılmıştır. *L. rhamnosus* HN001 çoğalma evresinden durma evresine geçtiğinde GroEL’in sentez düzeyinin 10 kat arttığı saptanmıştır. Durma evresinde yüksek sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmış *L. rhamnosus* HN001’de GroEL sentez düzeyi aynı evrede yüksek sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmamış *L. rhamnosus* HN001’e göre 1.5 kat artış gösterirken, çoğalma evresinin ortasında yüksek sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmış *L. rhamnosus* HN001’de GroEL sentez düzeyi aynı evrede yüksek sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmamış *L. rhamnosus* HN001’e göre 15 kat artış gösterdiği tespit edilmiştir (Prasad vd 2003)



Şekil 2.2. GroES-GroEL şaperon sisteminin çalışma mekanizması (Vorob'eva 2004).

Desmond vd (2004) yapmış oldukları çalışmada yüksek sıcaklık adaptasyonu süresince *L. paracasei* NFBC338'de sentezlenen proteinlerin tespitini ve yüksek sıcaklığa karşı adaptasyonu sağlanmış *L. paracasei* NFBC338'in yüksek sıcaklık stresi sonucunda canlılığı üzerine etkisinin belirlenmesini amaçlamışlardır. Çoğalma evresindeki *L. paracasei* NFBC338'in MRS sıvı besiyeri içinde 52°C'de 15 dakika yüksek sıcaklığa karşı adaptasyonu sağlandıktan sonra söz konusu bakteriye 60°C'de 30 dakika yüksek sıcaklık stresi uygulanmıştır. Yüksek sıcaklık adaptasyonu süresince *L. paracasei* NFBC338'de 12 proteinin sentezinde artış olduğu tespit edilmekle birlikte, en fazla artışın GroEL şaperonunun sentezinde olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, yüksek sıcaklık stresine karşı adaptasyonu sağlanmamış *L. paracasei* NFBC338'in canlılığının yüksek sıcaklık stresi sonunda başlangıç düzeyine göre 2 log kob/ml azalış gösterdiği tespit edilirken, yüksek sıcaklığa karşı adaptasyonu sağlanmış *L. paracasei* NFBC338'in canlılığının yüksek sıcaklık stresi sonunda başlangıç düzeyine göre 0.5 log kob/ml azalış gösterdiği saptanmıştır.

2.2.3. Küçük Sıcaklık Şok Proteinleri (sHSPs)

sHSPs; stres koşulları altında diğer şaperon sistemleriyle beraber proteinin doğru katlanmasını sağlayan, ATP'den bağımsız olarak faaliyet gösteren ve 12-43 kDa molekül ağırlığında olan şaperon benzeri bir protein grubudur. Bu protein grubu, hücrede stresten etkilenmiş proteinleri kendisine bağlayarak ilgili şaperon gruplarına ulaştırmaktadır (Capozzi vd 2011a). sHSPs, N terminal bölgesi ile C terminal bölgesi arasında bulunan değişik dizilim ve uzunluklarda olabilen çok iyi korunmuş α -kristalin ile karakterize edilmektedir (Şekil 2.3). Küçük sıcaklık şok proteinleri bakteri türlerine göre oldukça farklılık göstermektedir (Nakamoto ve Vigh 2007, Guzzo 2012).



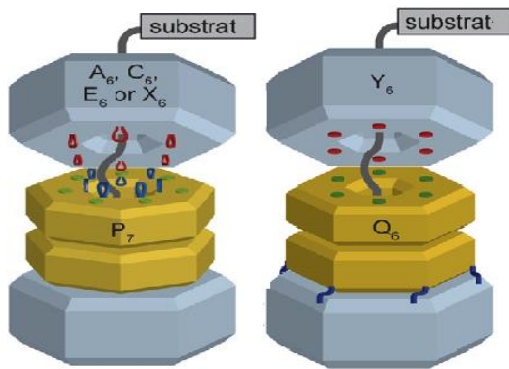
Şekil 2.3. Hsp27 (HspB1)'nin yapısal bölgeleri (Acunzo 2012).

Yüksek sıcaklık stresinin *L. acidophilus* NCFM'deki sHSP 16 geninin transkripsiyonu üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, çoğalma evresinin ortasına ($OD_{600}=0.6$) kadar geliştirilen *L. acidophilus* NCFM'ye MRS sıvı besiyerinde 45°C ve 53°C'lerde 5 ve 15 dakika yüksek sıcaklık stresi uygulanmıştır. Yapılan RT-PCR analizi ile yüksek sıcaklık stresi uygulanan *L. acidophilus* NCFM'de 16.16 kDa ağırlığına sahip küçük sıcaklık şok proteini (sHSP16) tespit edilmiştir. 45°C ve 53°C'lerde 5 dakikalık yüksek sıcaklık uygulamasında sHSP16 transkripsiyonunun belirgin bir şekilde etkilendiği belirlenmiştir. 45°C ve 53°C'de 15 dakikalık yüksek sıcaklık uygulamasından sonra sHSP16 sentezinin yüksek sıcaklık stresi uygulanmayan *L. acidophilus* NCFM'ye göre sırasıyla 7 ve 18 kat arttığı tespit edilmiştir (Capozzi vd 2011b).

2.2.4. Proteazlar

Kazeinolitik proteaz (Clp) hem normal koşullar altında hem de stres koşulları altında farklı hücresel işlemler açısından öneme sahiptir. Clp komplekslerinin iki bileşenli yapısını silindirik şeklinde iki farklı proteolitik çekirdek (ClpP ve ClpQ) ve ATPaz işlevine sahip farklı şaperon halkaları meydana getirmektedir (Şekil 2.4). ClpP proteolitik çekirdeği ClpA, ClpB, ClpC, ClpE, ClpL ve ClpX gibi aktif şaperonlarla, ClpQ proteolitik çekirdeği ise ClpY şaperonu ile etkileşime girerek farklı proteaz kompleksleri oluşturabilmektedir (Suokko 2008, Kress 2009). Oluşan Clp proteaz kompleksleri, birden çok polipeptit zincirinden oluşan proteinleri parçalayan serin proteaz aktivitesine sahip olmaktadır. Yüksek sıcaklık stresi uygulamalarından sonra Clp proteaz, şaperonlar tarafından tekrar katlanamayan zarar görmüş proteinleri parçalamaktadır (De Angelis ve Gobbetti 2011).

Yapılan bir çalışmada, 37°C'de $OD_{600}=0.5$ değerine ulaşıncaya kadar geliştirilen *L. rhamnosus* E97800'e 50°C'de 10 dakika yüksek sıcaklık stresi uygulanmış ve ClpL1 ile ClpL2'nin yüksek sıcaklığa bağlı sentezlenme miktarları incelenmiştir. Yüksek sıcaklık stresi uygulanan *L. rhamnosus* E97800'de ClpL1 ve ClpL2'nin sentez miktarları yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılmayan *L. rhamnosus* E97800'e göre sırasıyla 20 ve 3 kat artış göstermiştir (Suokko 2005).



Şekil 2.4. Clp kompleksinin yapısı (Kress 2009).

Htr (yüksek sıcaklık gereksinimi) A hücre zarında bulunan ve şaperon işlevine sahip serin proteazıdır. *E. coli*'de HtrA proteazı düşük sıcaklıklarda şaperon olarak görev almasına karşın normal ve yüksek sıcaklıklarda katlanmamış proteinlere karşı doğrudan proteaz görevi üstlenmektedir. Smeds vd (1998) yaptıkları çalışmada *Lactobacillus*

helveticus'u 37°C'de çoğalma evresine (OD₆₀₀=0.8) kadar geliştirdikten sonra gelişim ortamının sıcaklığını 52°C'ye yükselterek *L. helveticus*'un yüksek sıcak stresine karşı adapte olmasını sağlamışlardır. Yüksek sıcaklığa adaptasyon uygulamasının sonunda *L. helveticus*'da HtrA transkripsiyon miktarının iki katına çıktığını tespit edilmiştir.

2.3. Bakterilerin Çoğalma ve Durma Evresinde Strese Karşı Adaptasyonu

Bir bakterinin farklı gelişim evrelerinde (adaptasyon, çoğalma ve durma evresi) aynı strese karşı oluşturduğu yanıt farklı olabilmektedir. Bu farklardan biri bakteri tarafından çoğalma evresinde genellikle tek bir stres koşuluna direnç için belirli proteinler sentezlenirken, durma evresinde ise birden çok stres koşuluna direnç için çok sayıda protein sentezlenmektedir. Bir diğer fark ise durma evresindeki bakteriler genel bir stres direnci geliştirmekte, bu nedenle farklı stres koşullarına karşı çoğalma evresindekilere göre daha fazla direnç gösterebilmektedir (Kim vd 2001, Saarela vd 2004, Dikici 2009).

Belirli bir koşula yanıt oluşturmada bakterinin davranışı, uygulama sırasındaki hücrelerin fizyolojik durumuna da bağlıdır. Durma evresindeki bakterilerin çoğunun hücre döngüsünün aynı aşamasında olması beklenmektedir. Bundan dolayı durma evresinde bulunan bakteriler yüksek oranda homojen bir bakteri topluluğunu temsil etmektedir. Buna uygun olarak, her bir bakterinin sentezlediği protein bileşimi aynı veya benzer olmaktadır. Çoğalma evresindeki bakteriler ise hücre döngüsünün farklı aşamalarında bulunmakta ve fizyolojik olarak heterojen bir bakteri topluluğunu temsil etmektedir. Hücre döngüsünün farklı aşamalarındaki bakteriler genetik yapısı aynı olsa dahi, fizyolojik olarak farklılık göstermektedir. Bu nedenle çoğalma evresinde bakterinin sentezlediği protein bileşiminin, hücre döngüsünün hangi aşamasında olduğuna bağlı olarak değişmesi beklenmektedir (Yılmaz 2008).

Tüm bu bilgiler ışığı altında probiyotik bakterilerin stres koşullarına adaptasyonlarının, olumsuz çevre koşullarına karşı dayanıklılıklarını arttırdığı ve dolayısıyla gıda sistemleri içerisindeki canlılıklarını koruduğu düşünülmektedir. Yapılan bu çalışmada, farklı gelişim evrelerindeki (çoğalma ve durma) *L. acidophilus* farklı sıcaklık-süre kombinasyonlarında sublethal strese maruz bırakıldıktan sonra -20°C'de 30 gün tutulmuştur. Yapılan sayım sonuçlarına göre -20°C'de 30 gün depolama sırasında *L. acidophilus*'un canlı kalma düzeyinin başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısına göre en yüksek olduğu ısıl stres koşulları tespit edilmiştir. Yaklaşık %3 oranında (w/v) *L. acidophilus* içeren süte önceden tespit edilen iki farklı sıcaklık-süre kombinasyonunda (4°C'de 18 saat ve 45°C'de 15 dakika) ısıl adaptasyon uygulanmıştır. Süt içerisinde ısıl adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* kullanılarak "Probiyotik Dondurma" üretilmiştir. Probiyotik dondurma üretimi; miksin ısıl adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* içeren süt ile fermente edildikten sonra dondurmaya işlenmesi (1. yöntem) ve ısıl adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* içeren süt eklenen miksin fermente edilmeden dondurmaya işlenmesi (2. yöntem) olmak üzere 2 farklı yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın kontrol grubunu ise, ısıl strese karşı adapte edilmeyen *L. acidophilus* kullanılarak her iki yöntemle üretilen dondurma örnekleri oluşturmuştur. Üretimi yapılan probiyotik dondurmalar -20°C'de 90 gün süresince depolanmış ve depolanmanın 1. gününde dondurma örneklerinin fizikokimyasal özellikleri; depolanmanın 1., 30., 60. ve 90. günlerinde ise mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri tespit edilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Probiyotik dondurmaların üretiminde kullanılan yağsız süt tozu, krema, şeker, stabilizatör piyasadan; *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 Münih Teknik Üniversitesi Bakteriyoloji Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Probiyotik dondurma örneklerinin üretimi ise Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Probiyotik dondurma üretiminde kullanılmak üzere kültür hazırlanması

Orijinal ampullerinde bulunan saf probiyotik bakteri (*L. acidophilus*), steril koşullar altında 1'er ml MRS sıvı besiyeri eklenip karıştırıldıktan sonra 250 ml MRS sıvı besiyerine inoküle edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde karışım, santrifüj (6000 rpm, 5°C, 5 dk.) edilmiştir. Santrifüj sonrası santrifüj tüplerinde üste kalan sıvı kısım döküldükten sonra çöken kısımların üzerine 5 ml Nutrient sıvı besiyeri-Gliserin karışımı (0.8 g Nutrient sıvı besiyeri + 30 ml gliserin + 70 ml saf su) ilave edilerek eppendorf tüplerine (1.5 ml'lik) 1 ml olacak şekilde konulmuş ve ısıl stres uygulaması ile probiyotik dondurma üretimi sırasında kullanılmak üzere -80°C'de depolanmıştır.

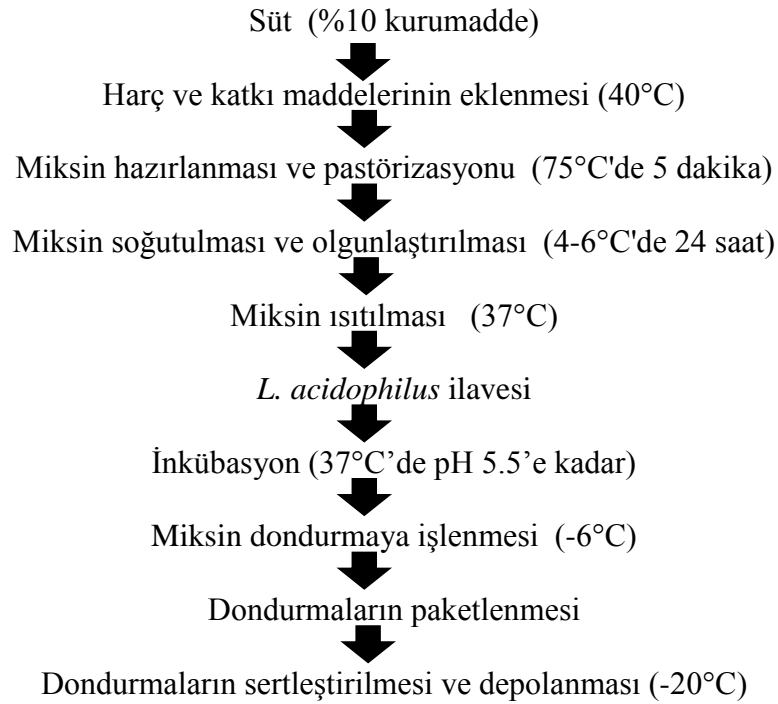
3.2.2. Isıl Adaptasyon Uygulaması

3.2.1.'deki gibi hazırlanan stok kültürün aktif hale gelmesi için eppendorf tüplerinden MRS sıvı besiyerine OD₆₀₀ değeri 1.2 olacak şekilde *L. acidophilus* inoküle edilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra *L. acidophilus*'un gelişim eğrisi Kim vd (2001)'nin kullandığı yöntem modifiye edilerek oluşturulmuştur. *L. acidophilus*'un gelişim eğrisinin oluşturulması için daha önceden aktive edilen *L. acidophilus* kültüründen OD₆₀₀ değeri 1.2 olacak şekilde MRS sıvı besiyerine aktarılmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresince birer saat aralıklarla örnek alınarak *L. acidophilus* sayımı yapılmıştır. Ayrıca *L. acidophilus* içeren MRS sıvı besiyerinin optik yoğunluğunu belirlemek üzere 600 nm'de absorbans değeri ölçülmüştür. Elde edilen veriler ile oluşturulan gelişim eğrisine göre *L. acidophilus*'un çoğalma ve durma evreleri ile ilgili süreler belirlenmiştir. Daha sonra çoğalma ve durma evresindeki *L. acidophilus*; 4, 10, 20, 45, 50 ve 55°C'lerde 24 saat süresince tutulmuştur. Optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerleri (4, 10 ve 20°C) için inkübasyon süresince 30. ve 60. dakikalar ile 2., 3., 4., 5., 6., 7., 18. ve 24. saatlerde; üstündeki sıcaklıklarda (45, 50 ve 55°C) ise 15., 30., 60. ve 90. dakikalar ile 2., 3., 4., 5., 18. ve 24. saatlerde örnek alınarak *L. acidophilus* sayımı yapılmıştır. Ayrıca MRS sıvı besiyerinde bulunan *L. acidophilus*, yukarıda bahsedilen her bir sıcaklık-süre kombinasyonunda ısıl adaptasyonu sağlandıktan sonra -20°C'de 30 gün süresince depolanmıştır. Depolamanın 1., 15 ve 30. günlerinde *L. acidophilus* içeren MRS sıvı besiyerlerinde oda sıcaklığında birkaç dakikada çözündürüldükten sonra *L. acidophilus* sayımı yapılmıştır. Sayım sonuçlarına göre -20°C'de 30 gün depolama sonunda *L. acidophilus*'un canlı kalma düzeyinin en yüksek olduğu ısıl adaptasyon koşulları (optimum gelişme sıcaklığının altında ve üstünde birer sıcaklık-süre kombinasyonu olmak üzere) belirlenmiştir.

Belirlenen ısı adaptasyon koşulları (4°C’de 18 saat ve 45°C’de 15 dakika) *L. acidophilus* içeren süte de uygulanmıştır. Bu uygulama için MRS sıvı besiyeri içerisinde OD₆₀₀ değeri 1.2 olacak şekilde stok kültür inoküle edilip 37°C’de 24 saat inkübe edilerek *L. acidophilus*’un aktif hale gelmesi sağlanmıştır. Aktif hale gelen *L. acidophilus* kültüründen OD₆₀₀ değeri 1.2 olacak şekilde MRS sıvı besiyerine aktarılmış ve 37°C’de inkübe edilmiştir. *L. acidophilus*’un çoğalma ve durma evresinde inkübasyon sonlandırılarak MRS sıvı besiyeri, santrifüj (6000 rpm, 5°C, 5 dk.) edilmiştir. Santrifüj sonrası santrifüj tüplerinde üste kalan sıvı kısım dökülerek çöken kısım %3 oranında (w/v) rekonstitüye süte (%11 yağsız süt kurumadeli) inoküle edilmiştir. Süt içerisinde ısı adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus*, probiyotik dondurmaların üretiminde kullanılmıştır.

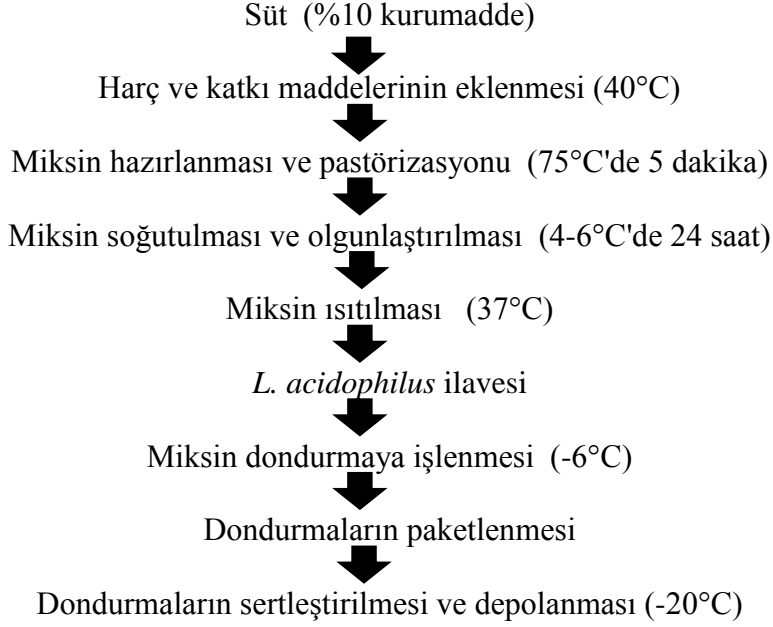
3.2.3. Probiyotik dondurma üretimi

Probiyotik dondurma üretiminde kullanılacak olan miks, yağsız süt kurumadde oranı %10, şeker oranı %18, yağ oranı %3 ve stabilizatör oranı %0.5 olacak şekilde hazırlanmıştır. Dondurmaların üretiminde probiyotik bakteri olarak süt ortamında ısı adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* kullanılmıştır. Çalışmanın kontrol grubunu ise ısı stres uygulanmayan *L. acidophilus* kullanılarak üretilen probiyotik dondurma örnekleri oluşturmuştur. Probiyotik dondurmalar iki farklı yöntemle üretilmiştir. Birinci yöntemle probiyotik dondurma üretiminde (Şekil 3.1) olgunlaştırma sonrası 37°C’ye ısıtılan mikse dondurmada probiyotik bakteri sayısı 10⁷ kob/g olacak şekilde *L. acidophilus* inoküle edilmiştir. Miks pH’sı 5.5’e ulaşmaya kadar fermente edilmiştir. Fermantasyon sonunda soğutulan miks dondurmaya işlenmiştir.



Şekil 3.1. Birinci yöntemle probiyotik dondurma üretimi

İkinci yöntemde göre probiyotik dondurma üretiminde (Şekil 3.2) olgunlaştırma sonrası dondurma miksine dondurmaya işlemeden hemen önce dondurma 10^7 kob/g probiyotik bakteri içerecek şekilde *L. acidophilus* inoküle edilmiştir. Miks, fermantasyona uğratılmaksızın dondurmaya işlenmiştir.



Şekil 3.2. İkinci yöntemde göre probiyotik dondurma üretimi

3.3. Analizler

3.3.1. Fizikokimyasal analiz yöntemleri

3.3.1.1. Dondurma miksinde yapılan analizler

3.3.1.1.1. Viskozite tayini

Probiyotik dondurma mikserlerinin viskozite değerleri Brookfield viskozimetresi (Model DV II+Pro, Brookfield Engineering Laboratories Inc, Middleboro, MA, USA) kullanılarak tespit edilmiştir. Ölçümler 5°C'de 5 numaralı spindle kullanılarak ve 10 rpm dönüş hızında yapılmış olup sonuçlar cP olarak verilmiştir (Abd El-Rahman vd 1997).

3.3.1.1.2. Titrasyon asitliği tayini

100 ml hacmindeki erlen içerisine homojenize edilmiş örnekten 9 g tartılmıştır. Üzerine 3-5 damla %1'lik fenolfitaleyn belirteç çözeltisinden ilave edildikten sonra 0.1 N NaOH çözeltisi ile kaybolmayan hafif pembe renk meydana gelinceye kadar titre edilmiştir. Harcanan alkali miktarından örneklerin % asitlik değeri hesaplanmıştır (Gürsel ve Karacabey 1998).

3.3.1.1.3. pH tayini

pH değeri Thermo Scientific Orion 2 Star marka pH metre (Orion 2 Star, Thermo Scientific, Ayer Rajah Crescent, Singapore) kullanılarak belirlenmiştir.

3.3.1.2. Probiyotik dondurmalarda yapılan analizler

Probiyotik dondurma örneklerinde fizikokimyasal analizler depolamanın 1. gününde gerçekleştirilmiştir.

3.3.1.2.1. Kurumadde tayini

İçerisinde bir miktar HCl ile yıkanmış kurutulmuş kum ve baget konulan kurutma kapları kapakları yarı açık olarak 102±2°C’de etüvde 1 saat tutulduktan sonra desikatöre alınarak oda sıcaklığına kadar soğuması sağlanmıştır. Darası tespit edilen kurutma kaplarına homojenize edilmiş örneklerden 2-3 g alınıp baget yardımıyla kumla karıştırılarak kabın dibine yayılması sağlanmıştır. Kurutma kapları ağzı açık olacak şekilde 102±2°C’de 1.5-2 saat kadar tutulmuş ve ardından desikatörde soğutularak tartımı alındıktan sonra tekrar etüve yerleştirilmiştir. 1 saatlik kurutma işleminin ardından kaplar soğutularak tekrar tartılmış ve iki tartım arasındaki fark 0.5 mg oluncaya kadar kurutma işlemine devam edilmiştir. Elde edilen son değerler kullanılarak örneklerin kurumadde oranları aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır (Gürsel ve Karacabey 1998).

$$\text{Kurumadde (\%)} = [(M_1 - M_0) / (M - M_0)] \times 100$$

M_0 = Kap ve kumun kütlesi (dara), g

M = Kurutmadan önceki örnek ile birlikte kabın kütlesi, g

M_1 = Kurutmadan sonra örnek ile kabın kütlesi, g

3.3.1.2.2. Yağ tayini

Süt bütirometresine 1.82 özgül ağırlığına sahip H₂SO₄’ten 10 ml, 1 kısım dondurma + 2 kısım su karışımından 11 ml ve amil alkolden 1 ml aktarılmıştır. Daha sonra bütirometre 10 kez alt-üst edilerek içindekilerin tamamen karışması sağlanmıştır. Bütirometreler karşılıklı olarak santrifüje yerleştirilmiş ve 10 dakika santrifüj edilmiştir. Örneklerin yağ içeriği skaladan % olarak okunmuş ve okunan değer 3 ile çarpılarak gerçek yağ yüzdesi bulunmuştur (Gürsel ve Karacabey 1998).

3.3.1.2.3. Protein tayini

Probiyotik dondurma örneklerinin protein miktarları, Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir (Kurt vd 1993).

3.3.1.2.4. Kül tayini

Örneklerin kül içerikleri gravimetrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir (Kurt vd 1993).

3.3.1.2.5. Toplam şeker tayini

% Kurumadde değerinden % yağ, % protein ve % kül miktarlarının toplamının çıkarılmasıyla hesaplanmıştır (Işık 2005).

3.3.1.2.6. Titrasyon asitliği tayini

100 ml hacmindeki erlen içerisine homojenize edilmiş örnekten 10 g tartılıp üzerine 10 ml saf su eklenmiştir. Üzerine 1 ml %2'lik fenolfitaleyn belirteç çözeltisinden ilave edildikten sonra 0.1 N NaOH çözeltisi ile kaybolmayan hafif pembe renk meydana gelinceye kadar titre edilmiştir. Harcanan alkali miktarından örneklerin % asitlik değeri hesaplanmıştır (Kurt vd 1993).

3.3.1.2.7. pH tayini

Probiyotik dondurma örneklerinin pH değeri Thermo Scientific Orion 2 Star marka pH metre (Orion 2 Star, Thermo Scientific, Ayer Rajah Crescent, Singapore) kullanılarak belirlenmiştir.

3.3.1.2.8. Hacim artışı (over-run) tayini

Probiyotik dondurma örneklerinin hacim artışını belirlemek için, örnekler, darası tespit edilen ölçülü silindir içine belli hacme kadar boşluk kalmayacak şekilde doldurulmuş ve hassas terazide tartılmıştır. Aynı probiyotik dondurma örneği bir beher içinde su banyosunda eritilmiş ve eriyen karışım ölçülü silindir içine aynı hacme kadar konulmuş ve tartılmıştır. Sonuçlar aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (Anonim 1986).

$$\text{Hacim artışı (\%)} = (\text{KA} - \text{DA}) / \text{DA} \times 100$$

DA: Probiyotik dondurma kütlesi, g

KA: Eritilmiş karışımın kütlesi, g

3.3.1.2.9. Erime miktarı tayini

Aralıkları 2.5 mm olan paslanmaz çelikten yapılmış bir elek, darası alınan bir beher (500-600 ml'lik) üzerine yerleştirilmiştir. Eleğin üzerine önceden analiz için hazırlanan -20°C'deki probiyotik dondurmadan yaklaşık 100 g tartılmıştır. Tartımlar 15 sn içinde gerçekleştirilmiştir. Tartımdan hemen sonra örnekler 15.5±0.3°C'deki inkübasyon dolabına yerleştirilerek kronometre çalıştırılmıştır. Tam 10 dakika sonra inkübasyon dolabından çıkarılan beher, üzerindeki elek ve dondurma kaldırılarak tartılmış ve dara + eriyen probiyotik dondurma miktarı belirlenmiştir. Elek ile dondurma tekrar beherin üzerine yerleştirilmiş beher aynı sıcaklıktaki inkübasyon dolabına konulmuştur. Bundan sonra her 10 dakikada bir bu işlem tekrarlanmış ve 60. dakikada işleme son verilmiştir. Böylece 10., 20., 30., 40., 50. ve 60. dakikalarda belirlenen ağırlık değerlerinden beherin darası çıkarılmış erime miktarları hesaplanmıştır (Dervişoğlu 1995).

3.3.1.2.10. Sertlik değeri tayini

Probiyotik dondurmaların sertlik değeri TA.XT Plus tekstür analiz cihazı (Stable Microsystems, Godalming, Surrey, UK) kullanılarak El-Nagar vd (2002)'nin kullandığı yöntem modifiye edilerek tespit edilmiştir. Probiyotik dondurmaların sertlik değeri tayini derin dondurucudan çıkarılan örneklerin 15°C'de 15 dakika bekletilmesinden sonra yapılmıştır. Analiz; 5 mm'lik silindir prob kullanılarak ve test hızı 1 mm/s, bekleme süresi 5 sn, trigger kuvveti 50 kg, uzaklık ise 25 mm olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Probiyotik dondurma örneklerine ait sertlik değerleri N (Newton) cinsinden ifade edilmiştir.

3.3.1.3. Mikrobiyolojik analiz yöntemleri

Mikrobiyolojik analizler MRS sıvı besiyerinde, sütte (ısıl stres uygulama çalışmaları sırasında), probiyotik dondurma mikslerinde (dondurma makinesine girmeden önce) ve probiyotik dondurma örneklerinde (depolamanın 1., 30., 60. ve 90. günlerinde) yapılmıştır.

3.3.1.3.1. Seri dilüsyonların hazırlanması

Mikrobiyolojik ekimler yapılmadan önce 1/4 kuvvetinde ringer çözeltisi kullanılarak aseptik şartlar altında uygun desimal seri dilüsyonlar hazırlanmıştır (Anonymous 2001).

3.3.1.3.2. *Lactobacillus acidophilus* sayımı

L. acidophilus sayımında pH'sı 6.2'ye ayarlanmış De Man Rogosa Sharp (MRS) Agar besi ortamı olarak kullanılmıştır. MRS Agara sterilizasyon amacıyla 121°C'de 15 dakika ısıl işlem uygulanmıştır. Analiz dökme plak kültürel sayım yöntemi ile yapılmış ve inkübasyon anaerobik ortamda 37°C'de 72 saat süreyle gerçekleştirilmiştir (Anonymous 1997).

3.3.1.4. Duyusal analiz yöntemi

Dondurma örneklerinin duyusal analizleri Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü lisansüstü öğrencilerinden oluşturulmuş 10 kişilik panelist grubu tarafından yapılmıştır. Dondurmaların duyusal yönden değerlendirilmesinde TS 4265 (Dondurma-Süt Esası)'de belirtilen kriterler (Çizelge 3.1) kullanılmıştır (Anonim 1992).

3.3.1.5. İstatistik analiz yöntemi

Araştırma 2 tekerrürlü yapılmış olup, analizler paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonunda elde edilen sonuçlar varyans analizine tabi tutulmuş ve farklı bulunan sonuçlar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmıştır (Düzgüneş vd 1987).

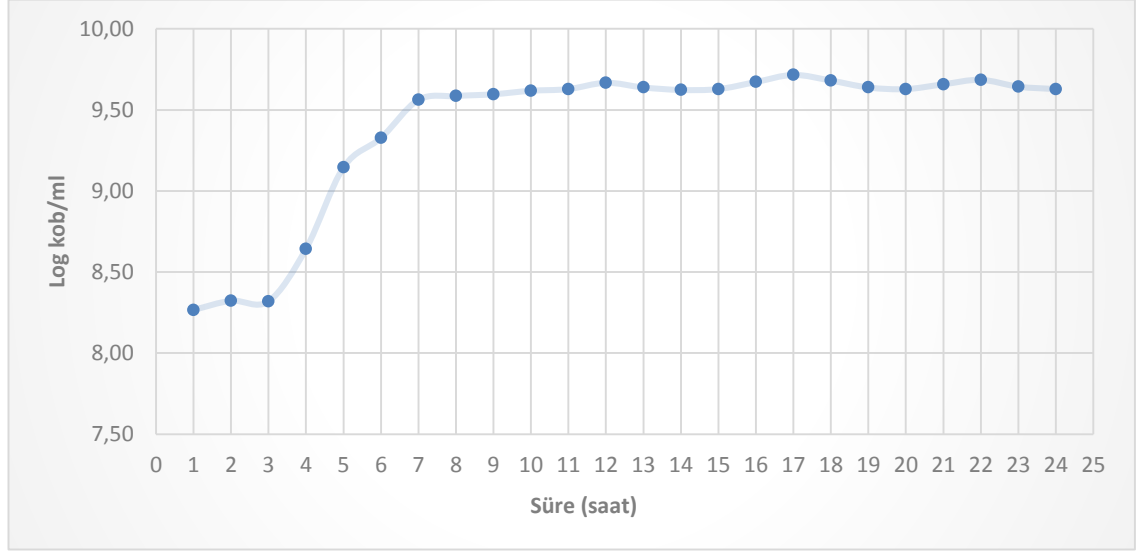
Çizelge 3.1. Dondurma örneklerinin duyusal niteliklerinin saptanmasında kullanılan puanlama ölçütler (Anonim 1992)

Özellik	Nitelik	Puan
RENK ve GÖRÜNÜŞ	ÇOK İYİ.....	5
	İYİ.....	4
	a) Net olmayan renk b) Görünümü biraz bozuk AZ KUSURLU.....	3
	a) Doğal olmayan renk KUSURLU.....	2
YAPI ve KIVAM	ÇOK İYİ.....	5
	İYİ.....	4
	a) Sert ve sıkı AZ KUSURLU.....	3
	a) Delikli hava kabarcıklı b) Yapışkan c) Gevşek dağılan d) Çamurumsu, ıslak KUSURLU.....	2
TAT ve KOKU	ÇOK İYİ.....	5
	İYİ.....	4
	a) Çok düşük asitlik b) Şeker azlığı c) Şeker fazlalığı AZ KUSURLU.....	3
	a) Acı, yanığımsı, maltımsı b) Sütten gelebilecek yem kokusu c) Aroma eksikliği d) Aroma fazlalığı e) Pişmiş tat f) Çok yüksek asitlik KUSURLU.....	2
	a) Küf tadı b) Çok ekşi tat c) Mayamsı d) Acı ve sabunumsu	

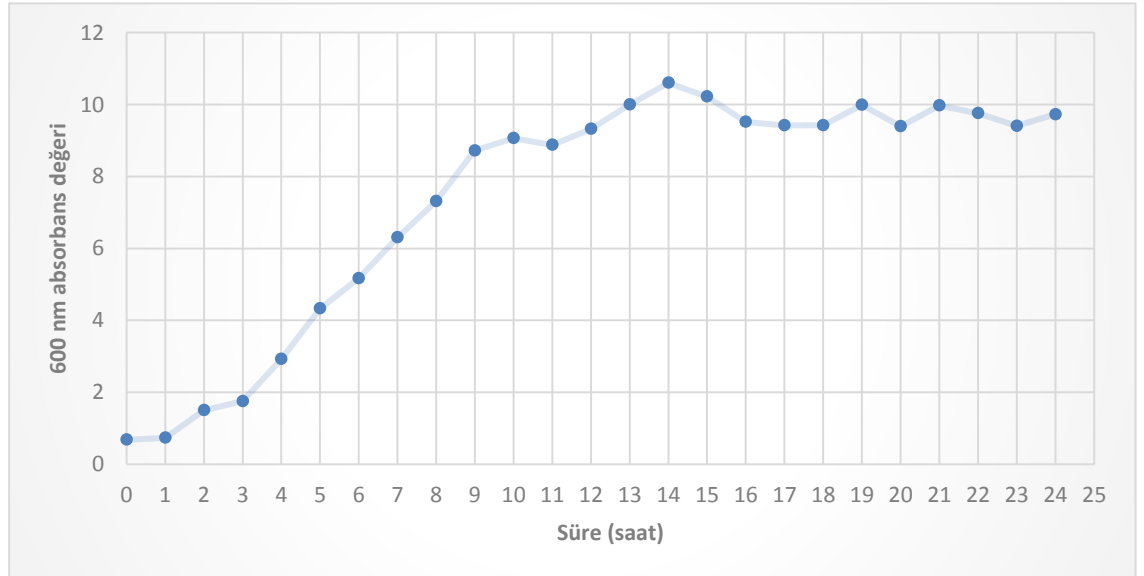
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. *L. acidophilus* DSM 20079'un Gelişim Eğrisinin Oluşturulması

L. acidophilus DSM 20079'un 37°C'de 24 saat süresince mikrobiyolojik sayım ve optik yoğunluk (OD₆₀₀) değerlerinin tespiti ile oluşturulan gelişim eğrileri sırasıyla Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir. Oluşturulan gelişim eğrilerine göre *L. acidophilus* DSM 20079'un çoğalma ve durma evreleri sırasıyla 6. ve 16. saatler olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1. *L. acidophilus* DSM 20079'un mikrobiyolojik sayım sonuçları ile oluşturulan gelişim eğrisi



Şekil 4.2. *L. acidophilus* DSM 20079'un optik yoğunluk (OD₆₀₀) değerlerinin ölçülmesi ile oluşturulan gelişim eğrisi

4.2. *L. acidophilus*'a Uygulanan Isıl Adaptasyon Koşullarının Belirlenmesi

Çoğalma ve durma evresindeki *L. acidophilus*; 4, 10, 20, 45, 50 ve 55°C'lerde 24 saat süresince tutulmuştur. Her iki gelişim evresi için optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerleri (4, 10 ve 20°C) için inkübasyon süresince 30. ve 60. dakikalar ile 2., 3., 4., 5., 6., 7., 18. ve 24. saatlerde; üstündeki sıcaklık değerlerinde (45, 50 ve 55°C) ise 15., 30., 60. ve 90. dakikalar ile 2., 3., 4., 5., 18. ve 24. saatlerde örnek alınarak *L. acidophilus* sayımı yapılmıştır. Ayrıca MRS sıvı besiyerinde bulunan *L. acidophilus*'un yukarıda bahsedilen her bir sıcaklık-süre kombinasyonunda ısıl adaptasyonu sağlandıktan sonra -20°C'de 30 gün süresince depolanmıştır. Depolamanın 1., 15 ve 30. günlerinde *L. acidophilus* içeren MRS sıvı besiyerlerinde oda sıcaklığında birkaç dakikada çözündürüldükten sonra *L. acidophilus* sayımı yapılmıştır (Çizelge 4.1, Çizelge 4.2). Depolamanın belirli günlerinde tespit edilen sayım sonuçlarının başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısına göre canlı kalma oranları hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamalara göre en yüksek canlı kalma oranlarının optimum gelişme sıcaklığının altı için 4°C'de 18 saat süresince tutularak ısıl adaptasyonu sağlanan çoğalma evresindeki *L. acidophilus*'ta, optimum gelişme sıcaklığının üstü için 45°C'de 15 dakika süresince tutularak ısıl adaptasyonu sağlanan çoğalma evresindeki *L. acidophilus*'ta olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4). Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi optimum gelişim sıcaklığı değerinin altındaki sıcaklık değerlerinde adaptasyonu sağlandıktan sonra -20°C'de strese maruz bırakılan *L. acidophilus*'un ortalama sayısı 1 günlük stres uygulaması sonunda 8.53 log kob/ml ile 9.49 log kob/ml arasında değişirken, 30. gün sonunda 4.03 log kob/ml ile 9.21 log kob/ml arasında değişmiştir. Optimum gelişim sıcaklığı değerinin üstündeki sıcaklık değerlerinde adaptasyonu sağlandıktan sonra -20°C'de strese maruz bırakılan *L. acidophilus*'un ortalama sayısı 1 günlük stres uygulaması sonunda 0.00 ile 9.34 log kob/ml arasında değişirken, 30. gün sonunda 0.00 ile 8.45 log kob/ml arasında değişmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. İki farklı gelişim evresi için optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyonu sağlanan *L. acidophilus*'un stres uygulaması (-20°C'de 30 gün süresince depolama) sonucundaki sayım sonuçları (log kob/ml)

Süre (saat)	Sıcaklık (°C)	Gelişim Evresi	<i>L. acidophilus</i> sayım sonuçları (log kob/ml)			
			Adaptasyon Sonrası	Stres Süresi (-20°C'de)		
				1. gün	15. gün	30. gün
0*	4	Çoğalma	9.40±0.03	9.13±0.00	8.39±0.03	7.40±0.01
		Durma	9.52±0.00	9.35±0.00	8.41±0.02	8.00±0.03
	10	Çoğalma	9.44±0.01	9.18±0.00	8.96±0.04	7.91±0.09
		Durma	9.55±0.01	9.30±0.02	9.11±0.01	7.94±0.06
	20	Çoğalma	9.44±0.01	9.18±0.01	8.31±0.02	6.88±0.02
		Durma	9.55±0.02	9.34±0.02	8.39±0.03	8.28±0.02
0.5	4	Çoğalma	9.41±0.01	9.21±0.00	8.03±0.00	7.52±0.03
		Durma	9.45±0.00	9.32±0.01	7.88±0.03	7.79±0.05
	10	Çoğalma	9.45±0.02	9.30±0.01	8.96±0.04	8.26±0.01
		Durma	9.51±0.01	9.35±0.01	9.02±0.02	7.69±0.03
	20	Çoğalma	9.47±0.01	9.29±0.02	8.54±0.02	7.37±0.01
		Durma	9.49±0.00	9.34±0.02	7.06±0.03	6.63±0.03

Devamı Arkada

Çizelge 4.1'in Devamı

1	4	Çoğalma	9.36±0.02	9.15±0.07	8.46±0.03	7.59±0.02
		Durma	9.45±0.02	9.22±0.01	8.67±0.04	8.23±0.01
	10	Çoğalma	9.44±0.01	9.31±0.02	9.03±0.04	8.44±0.02
		Durma	9.48±0.01	9.28±0.00	9.06±0.02	6.72±0.02
		Çoğalma	9.48±0.01	9.26±0.00	8.41±0.02	6.95±0.05
2	4	Çoğalma	9.35±0.00	9.26±0.02	8.42±0.01	7.80±0.01
		Durma	9.46±0.00	9.33±0.01	8.10±0.02	7.97±0.06
	10	Çoğalma	9.48±0.01	9.30±0.01	8.57±0.03	8.69±0.06
		Durma	9.53±0.00	9.44±0.02	8.87±0.02	7.95±0.05
		Çoğalma	9.48±0.00	9.16±0.04	7.81±0.02	6.55±0.01
3	4	Çoğalma	9.40±0.01	9.28±0.03	8.57±0.06	8.10±0.04
		Durma	9.41±0.01	9.36±0.01	8.33±0.03	8.11±0.04
	10	Çoğalma	9.43±0.01	9.31±0.01	8.80±0.00	8.67±0.06
		Durma	9.49±0.00	9.49±0.00	8.51±0.03	7.57±0.09
		Çoğalma	9.51±0.02	9.18±0.01	8.14±0.03	6.29±0.01
4	4	Çoğalma	9.42±0.01	9.29±0.01	8.54±0.01	8.30±0.02
		Durma	9.44±0.03	9.35±0.03	7.92±0.08	7.97±0.05
	10	Çoğalma	9.48±0.01	9.38±0.02	9.01±0.01	8.37±0.01
		Durma	9.48±0.01	9.45±0.01	9.01±0.06	6.83±0.01
		Çoğalma	9.52±0.01	9.15±0.03	8.25±0.05	6.16±0.03
5	4	Çoğalma	9.40±0.03	9.26±0.05	8.71±0.02	8.28±0.02
		Durma	9.43±0.00	9.34±0.04	8.51±0.01	7.61±0.03
	10	Çoğalma	9.46±0.02	9.29±0.02	8.89±0.02	7.91±0.01
		Durma	9.53±0.01	9.45±0.00	9.03±0.01	7.05±0.02
		Çoğalma	9.51±0.00	9.32±0.10	6.63±0.05	6.22±0.04
6	4	Çoğalma	9.41±0.00	9.37±0.01	8.69±0.06	8.31±0.03
		Durma	9.41±0.00	9.39±0.01	8.23±0.02	7.88±0.02
	10	Çoğalma	9.45±0.01	9.41±0.02	8.82±0.01	6.86±0.01
		Durma	9.50±0.03	9.34±0.01	8.60±0.01	7.10±0.04
		Çoğalma	9.52±0.03	9.36±0.00	8.05±0.05	5.06±0.06
7	4	Çoğalma	9.40±0.07	9.40±0.01	9.02±0.03	8.54±0.04
		Durma	9.40±0.01	9.34±0.00	8.11±0.02	7.99±0.01
	10	Çoğalma	9.46±0.00	9.44±0.01	8.18±0.04	8.39±0.01
		Durma	9.53±0.09	9.44±0.04	8.96±0.00	7.65±0.00
		Çoğalma	9.50±0.00	9.22±0.04	7.69±0.03	4.74±0.02
18	4	Çoğalma	9.41±0.01	9.38±0.02	9.33±0.00	9.21±0.02
		Durma	9.45±0.01	9.38±0.01	8.15±0.03	7.85±0.06
	10	Çoğalma	9.47±0.00	9.46±0.01	8.72±0.00	8.57±0.02
		Durma	9.45±0.00	9.41±0.00	8.78±0.00	8.00±0.02
		Çoğalma	9.61±0.02	9.30±0.01	5.95±0.04	4.08±0.03
24	4	Çoğalma	9.42±0.01	9.36±0.01	9.25±0.02	9.08±0.03
		Durma	9.35±0.00	9.07±0.02	8.30±0.03	7.42±0.01
	10	Çoğalma	9.50±0.00	8.53±0.04	8.83±0.01	7.77±0.03
		Durma	9.50±0.02	9.45±0.03	8.98±0.00	7.27±0.01
		Çoğalma	9.62±0.01	9.42±0.01	6.49±0.01	4.03±0.06
20	Çoğalma	9.48±0.01	9.34±0.02	6.98±0.02	4.38±0.01	
	Durma	9.48±0.01	9.34±0.02	6.98±0.02	4.38±0.01	

*Adaptasyon uygulaması yapılmayan örnekler olup, adaptasyon sonrası olarak verilen değerler başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısını göstermektedir.

Çizelge 4.2. İki farklı gelişim evresi için optimum gelişme sıcaklığının üstündeki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyonu sağlanan *L. acidophilus*'un stres uygulaması (-20°C'de 30 gün süresince depolama) sonucundaki sayım sonuçları (log kob/ml)

Süre (Saat)	Sıcaklık (°C)	Gelişim Evresi	<i>L. acidophilus</i> sayım sonuçları (log kob/ml)			
			Adaptasyon Sonrası	Stres Süresi (-20°C'de)		
				1. gün	15. gün	30. gün
0*	45	Çoğalma	9.57±0.02	9.29±0.02	8.59±0.01	7.84±0.08
		Durma	9.61±0.01	8.76±0.02	8.49±0.03	7.41±0.01
	50	Çoğalma	9.34±0.02	9.11±0.01	8.38±0.02	7.46±0.01
		Durma	9.48±0.01	9.32±0.03	7.93±0.01	7.09±0.01
	55	Çoğalma	9.43±0.00	8.93±0.03	7.99±0.06	7.62±0.03
		Durma	9.49±0.00	9.16±0.04	7.81±0.05	6.71±0.09
0.25	45	Çoğalma	9.50±0.02	9.34±0.04	8.76±0.00	8.45±0.03
		Durma	9.45±0.03	9.01±0.01	7.59±0.03	6.28±0.00
	50	Çoğalma	9.05±0.01	9.05±0.04	8.08±0.02	7.24±0.03
		Durma	9.11±0.03	8.06±0.00	3.84±0.01	3.09±0.09
	55	Çoğalma	5.41±0.00	5.27±0.03	5.23±0.00	5.03±0.03
		Durma	4.77±0.01	2.13±0.05	-**	-
0.5	45	Çoğalma	9.39±0.01	9.30±0.00	7.38±0.00	7.55±0.03
		Durma	9.38±0.02	8.90±0.01	6.80±0.06	4.21±0.01
	50	Çoğalma	6.19±0.00	6.15±0.01	6.08±0.00	5.99±0.01
		Durma	7.72±0.08	6.59±0.00	1.92±0.08	1.48±0.00
	55	Çoğalma	4.94±0.04	4.89±0.03	3.75±0.04	3.53±0.05
		Durma	4.85±0.00	2.33±0.01	-	-
1	45	Çoğalma	9.36±0.01	9.20±0.02	6.58±0.05	6.50±0.02
		Durma	9.33±0.00	8.67±0.05	4.62±0.02	3.95±0.05
	50	Çoğalma	5.67±0.01	5.62±0.01	5.39±0.02	5.33±0.00
		Durma	6.88±0.05	5.97±0.04	1.92±0.08	1.59±0.11
	55	Çoğalma	3.99±0.01	3.70±0.09	2.20±0.03	2.06±0.02
		Durma	3.69±0.04	1.15±0.15	-	-
1.5	45	Çoğalma	9.33±0.01	9.19±0.03	6.66±0.05	6.40±0.03
		Durma	9.26±0.01	8.15±0.00	3.80±0.01	3.79±0.01
	50	Çoğalma	5.61±0.01	5.57±0.04	5.12±0.05	5.03±0.04
		Durma	4.77±0.00	3.11±0.01	2.04±0.04	-
	55	Çoğalma	-	-	-	-
		Durma	-	-	-	-
2	45	Çoğalma	8.92±0.03	8.15±0.08	5.10±0.01	4.95±0.05
		Durma	8.18±0.00	6.69±0.09	2.71±0.02	1.74±0.04
	50	Çoğalma	5.76±0.00	5.71±0.05	5.58±0.08	5.38±0.01
		Durma	4.62±0.02	2.49±0.01	1.00±0.00	-
	55	Çoğalma	-	-	-	-
		Durma	-	-	-	-
3	45	Çoğalma	7.71±0.05	6.93±0.03	6.32±0.01	6.21±0.04
		Durma	5.27±0.04	4.93±0.04	2.71±0.00	1.39±0.39
	50	Çoğalma	5.67±0.00	5.60±0.01	5.60±0.01	5.53±0.05
		Durma	5.61±0.02	3.86±0.05	1.84±0.06	-
	55	Çoğalma	-	-	-	-
		Durma	-	-	-	-

Devamı Arkada

Çizelge 4.2'nin Devamı

4	45	Çoğalma	6.54±0.00	5.75±0.10	5.69±0.01	5.32±0.02
		Durma	7.22±0.01	7.04±0.02	5.08±0.01	4.60±0.03
	50	Çoğalma	5.86±0.04	5.80±0.02	5.95±0.00	5.76±0.01
		Durma	1.24±0.24	-	-	-
	55	Çoğalma	-	-	-	-
		Durma	-	-	-	-
5	45	Çoğalma	5.81±0.07	5.29±0.02	3.97±0.00	3.11±0.03
		Durma	6.41±0.00	6.21±0.01	2.48±0.03	2.47±0.01
	50	Çoğalma	5.87±0.03	5.76±0.03	5.55±0.03	5.35±0.01
		Durma	-	-	-	-
	55	Çoğalma	-	-	-	-
		Durma	-	-	-	-
18	45	Çoğalma	5.29±0.01	5.15±0.03	4.17±0.05	3.29±0.03
		Durma	6.18±0.02	4.78±0.06	2.44±0.06	-
	50	Çoğalma	-	-	-	-
		Durma	-	-	-	-
	55	Çoğalma	-	-	-	-
		Durma	-	-	-	-
24	45	Çoğalma	4.11±0.02	3.98±0.02	3.62±0.02	3.51±0.01
		Durma	3.67±0.04	1.98±0.02	1.83±0.13	-
	50	Çoğalma	-	-	-	-
		Durma	-	-	-	-
	55	Çoğalma	-	-	-	-
		Durma	-	-	-	-

*:Adaptasyon uygulaması yapılmayan örnekler olup, adaptasyon sonrası olarak verilen değerler başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısını göstermektedir.

** : Canlılık tespit edilemedi.

Optimum gelişme sıcaklığının altındaki ve üstündeki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyonu sağlanan *L. acidophilus*'un sayısının stres uygulaması (-20°C'de 30 gün süresince depolama) sonucundaki azalma oranı (%) sırasıyla Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'te verilmiştir. Optimum gelişme sıcaklığının altındaki ve üstündeki sıcaklık değerleri için 1 günlük stres uygulamasından sonra en düşük azalma oranı sırasıyla 10°C'de 18 ile 24 saat ve 45°C'de 15 dakika ısıl adaptasyonu sağlanan çoğalma evresindeki *L. acidophilus*'ta tespit edilmiştir. Her üç depolama gününde yapılan sayım sonuçları dikkate alındığında ise en yüksek canlı kalma oranlarının optimum gelişme sıcaklığı altı için 4°C'de 18 saat adapte edilen çoğalma evresindeki *L. acidophilus*'ta, optimum gelişme sıcaklığı üstü için 45°C'de 15 dakika adapte edilen çoğalma evresindeki *L. acidophilus*'ta olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4).

Çizelge 4.3. İki farklı gelişim evresi için optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyonu sağlanan *L. acidophilus*'un sayısının stres uygulaması (-20°C'de 30 gün süresince depolama) sonucundaki azalma oranı

Süre (Saat)	Sıcaklık (°C)	Gelişim evresi	<i>L. acidophilus</i> sayısındaki azalma oranı (%)			
			Adaptasyon Sonrası	Stres Süresi		
				1. gün	15. gün	30. gün
0	4	Çoğalma	-*	2.9±0.2	10.8±0.3	21.2±0.1
		Durma	-	1.8±0.0	11.6±0.2	15.9±0.3
	10	Çoğalma	-	2.8±0.0	5.1±0.4	18.5±0.7
		Durma	-	2.6±0.2	4.7±0.1	16.8±0.6
	20	Çoğalma	-	9.6±0.4	12.0±0.2	27.1±0.2
		Durma	-	2.2±0.2	12.1±0.3	13.3±0.2
0.5	4	Çoğalma	0	2.1±0.1	14.6±0.0	20.1±0.4
		Durma	0.7±0.0	2.0±0.1	17.3±0.3	18.1±0.6
	10	Çoğalma	0	2.8±0.0	4.3±0.5	12.5±0.1
		Durma	0.4±0.1	2.1±0.1	5.6±0.2	19.5±0.3
	20	Çoğalma	0	1.6±0.3	9.6±0.2	21.9±0.1
		Durma	0.6±0.1	2.0±0.0	26.0±0.4	30.6±0.3
1	4	Çoğalma	0	2.7±0.8	10.0±0.3	19.3±0.2
		Durma	0	3.2±0.1	8.9±0.4	13.6±0.1
	10	Çoğalma	0	1.4±0.1	9.2±0.3	10.6±0.2
		Durma	0.8±0.1	2.8±0.0	5.2±0.2	29.6±0.3
	20	Çoğalma	0	1.9±0.0	10.9±0.2	26.4±0.5
		Durma	0.7±0.2	1.5±0.4	22.8±0.2	36.3±0.2
2	4	Çoğalma	0	1.5±0.2	10.5±0.1	17.0±0.1
		Durma	0	2.0±0.1	14.9±0.2	16.3±0.6
	10	Çoğalma	0	1.4±0.2	6.7±0.0	8.0±0.7
		Durma	0.2±0.0	1.1±0.3	7.1±0.2	16.7±0.5
	20	Çoğalma	0	3.0±0.4	17.3±0.3	30.6±0.1
		Durma	0.7±0.1	1.6±0.1	23.9±0.4	25.9±0.0
3	4	Çoğalma	0	1.3±0.3	8.9±0.7	13.9±0.5
		Durma	0.5±0.1	1.7±0.1	12.4±0.3	14.8±0.4
	10	Çoğalma	0	1.5±0.1	4.5±0.1	8.1±0.6
		Durma	0.7±0.1	0.7±0.0	10.9±0.4	20.8±0.9
	20	Çoğalma	0	2.8±0.2	13.8±0.3	33.4±0.1
		Durma	0.6±0.2	2.5±0.3	27.0±0.6	27.9±0.1
4	4	Çoğalma	0	1.2±0.1	9.2±0.1	11.7±0.2
		Durma	0	1.8±0.4	16.8±0.8	16.3±0.5
	10	Çoğalma	0	1.3±0.1	5.9±0.2	11.3±0.1
		Durma	0.7±0.2	1.1±0.1	5.6±0.6	28.5±0.1
	20	Çoğalma	0	3.1±0.3	12.6±0.5	34.8±0.3
		Durma	0.6±0.3	1.9±0.2	19.9±0.1	31.9±0.7
5	4	Çoğalma	0	1.5±0.5	7.3±0.2	11.9±0.2
		Durma	0.1±0.0	1.9±0.4	10.6±0.1	20.1±0.3
	10	Çoğalma	0	0.6±0.2	6.6±0.1	16.2±0.1
		Durma	0.3±0.1	1.0±0.1	5.5±0.1	26.2±0.2
	20	Çoğalma	0	1.3±1.1	29.8±0.5	34.1±0.5
		Durma	0.6±0.1	1.2±0.2	24.7±0.0	32.3±0.4
6	4	Çoğalma	0	0.3±0.1	7.5±0.7	11.6±0.3
		Durma	0.2±0.0	1.3±0.2	13.6±0.2	17.2±0.2
	10	Çoğalma	0	1.6±0.2	13.3±0.4	27.3±0.1
		Durma	0.5±0.3	2.2±0.2	10.0±0.1	25.7±0.5
	20	Çoğalma	0.9±0.1	14.8±0.5	14.8±0.5	46.4±0.6
		Durma	1.2±0.0	1.5±0.1	18.6±0.2	37.5±0.3

Devamı Arkada

Çizelge 4.3'ün Devamı

4	Çoğalma	0	0	4.1±0.3	9.1±0.4
	Durma	0	1.9±0.0	14.8±0.2	16.0±0.1
10	Çoğalma	0	0.3±0.2	7.7±0.0	11.1±0.1
	Durma	0.3±0.0	1.2±0.4	6.1±0.1	19.9±0.1
20	Çoğalma	2.4±0.4	18.5±0.3	18.5±0.3	49.8±0.3
	Durma	0.8±0.1	1.2±0.2	21.7±0.3	31.1±0.5
4	Çoğalma	0	0.2±0.2	0.8±0.0	2.1±0.2
	Durma	0	1.4±0.1	14.4±0.3	17.6±0.6
10	Çoğalma	0	0	6.4±0.1	9.2±0.2
	Durma	1.0±0.0	1.4±0.0	8.1±0.0	16.3±0.2
20	Çoğalma	1.5±0.1	37.0±0.5	37.0±0.5	56.8±0.3
	Durma	1.2±0.1	2.8±0.0	24.7±0.0	54.6±0.4
4	Çoğalma	0	0.4±0.1	1.6±0.2	3.4±0.3
	Durma	1.0±0.1	4.7±0.2	12.8±0.3	22.0±0.1
10	Çoğalma	0	0	16.2±1.0	17.7±0.3
	Durma	0.5±0.2	1.16±0.4	6.0±0.1	23.8±0.1
20	Çoğalma	0.2±0.1	31.2±0.2	31.2±0.2	57.3±0.6
	Durma	0.7±0.1	0.6±0.0	26.9±0.2	54.1±0.1

*:Adaptasyon uygulaması yapılmayan örnekler olup adaptasyon sonrası bir değer bulunmamaktadır.

Çizelge 4.4. İki farklı gelişim evresi için optimum gelişme sıcaklığının üstündeki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyonu sağlanan *L. acidophilus*'un sayısının stres uygulaması (-20°C'de 30 gün süresince depolama) sonucundaki azalma oranı (%)

Süre (Saat)	Sıcaklık (°C)	Gelişim Evresi	<i>L. acidophilus</i> sayısındaki azalma oranı (%)			
			Adaptasyon Sonrası	Stres Süresi		
				1. gün	15. gün	30. gün
0	45	Çoğalma	-*	3.0±0.3	10.3±0.1	18.1±0.8
		Durma	-	8.9±0.2	11.6±0.3	22.9±0.1
	50	Çoğalma	-	2.5±0.1	10.3±0.2	20.1±0.1
		Durma	-	1.7±0.3	16.4±0.1	25.3±0.1
	55	Çoğalma	-	5.4±0.3	15.3±0.6	19.3±0.3
		Durma	-	3.5±0.5	17.8±0.5	29.4±1.0
0.25	45	Çoğalma	0.8±0.3	2.4±0.4	8.5±0.0	11.8±0.3
		Durma	1.7±0.3	6.2±0.1	21.0±0.4	34.6±0.0
	50	Çoğalma	3.1±0.1	3.1±0.0	13.5±0.2	22.5±0.4
		Durma	3.9±0.1	15.0±0.0	59.5±0.1	67.4±0.9
	55	Çoğalma	42.7±0.0	44.1±0.3	44.5±0.0	46.6±0.3
		Durma	49.7±0.1	77.6±0.5	100.0±0.0	100.0±0.0
0.5	45	Çoğalma	1.9±0.1	2.9±0.1	22.9±0.0	21.2±0.3
		Durma	2.3±0.2	7.3±0.1	29.2±0.6	56.2±0.1
	50	Çoğalma	33.7±0.4	34.1±0.1	34.9±0.0	35.8±0.1
		Durma	18.6±0.9	30.5±0.0	79.7±0.8	84.4±0.0
	55	Çoğalma	47.7±0.4	48.2±0.4	60.3±0.4	62.6±0.5
		Durma	48.9±0.0	75.4±0.1	100.0±0.0	100.0±0.0
1	45	Çoğalma	2.2±0.1	3.9±0.2	31.3±0.5	32.1±0.2
		Durma	2.9±0.0	9.8±0.5	51.9±0.2	58.9±0.5
	50	Çoğalma	39.3±0.1	39.8±0.1	42.3±0.2	42.9±0.0
		Durma	27.5±0.5	37.1±0.4	79.7±0.8	83.3±1.2
	55	Çoğalma	57.7±0.1	60.8±1.0	76.6±0.3	78.2±0.2
		Durma	61.1±0.4	87.9±1.6	100.0±0.0	100.0±0.0

Devamı Arkada

Çizelge 4.4'ün Devamı

1.5	45	Çoğalma	2.6±0.1	4.1±0.3	30.4±0.5	33.2±0.3
		Durma	3.6±0.1	15.2±0.0	60.4±0.1	60.5±0.2
	50	Çoğalma	39.9±0.1	40.4±0.4	45.2±0.6	46.2±0.5
		Durma	49.7±0.0	67.3±0.1	78.5±0.4	100.0±0.0
	55	Çoğalma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
		Durma	70.3±0.1	94.7±5.3	100.0±0.0	100.0±0.0
2	45	Çoğalma	6.9±0.3	14.9±0.9	46.7±0.1	48.3±0.5
		Durma	14.9±0.0	30.4±0.9	71.8±0.2	81.9±0.4
	50	Çoğalma	38.3±0.0	38.8±0.5	40.2±0.8	42.4±0.1
		Durma	51.3±0.2	73.7±0.2	89.5±0.0	100.0±0.0
	55	Çoğalma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
		Durma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
3	45	Çoğalma	19.4±0.5	27.6±0.3	34.0±0.2	35.1±0.5
		Durma	45.2±0.4	48.7±0.4	71.8±0.0	85.5±4.1
	50	Çoğalma	39.3±0.1	40.1±0.1	40.1±0.1	40.8±0.6
		Durma	40.8±0.2	59.3±0.5	80.6±0.7	100.0±0.0
	55	Çoğalma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
		Durma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
4	45	Çoğalma	31.7±0.0	40.0±1.0	40.6±0.1	44.4±0.2
		Durma	24.9±0.1	26.7±0.2	47.1±0.1	52.2±0.3
	50	Çoğalma	37.2±0.5	37.9±0.2	36.3±0.0	38.3±0.1
		Durma	86.9±2.5	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
	55	Çoğalma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
		Durma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
5	45	Çoğalma	39.4±0.8	44.8±0.2	58.6±0.0	67.5±0.4
		Durma	33.3±0.0	35.3±0.1	74.2±0.3	74.3±0.1
	50	Çoğalma	37.1±0.3	38.3±0.3	40.6±0.3	42.7±0.1
		Durma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
	55	Çoğalma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
		Durma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
18	45	Çoğalma	44.7±0.1	46.3±0.3	56.5±0.5	65.6±0.3
		Durma	35.7±0.3	50.2±0.6	74.6±0.7	100.0±0.0
	50	Çoğalma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
		Durma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
	55	Çoğalma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
		Durma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
24	45	Çoğalma	57.1±0.2	58.5±0.2	62.2±0.2	63.3±0.1
		Durma	61.9±0.4	79.4±0.2	81.0±0.0	100.0±0.0
	50	Çoğalma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
		Durma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
	55	Çoğalma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
		Durma	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0

*:Adaptasyon uygulaması yapılmayan örnekler olup adaptasyon sonrası bir değer bulunmamaktadır.

L. acidophilus için optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde ısı adaptasyon uygulamasının sonundaki sayım sonuçlarının başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısına oranlarının istatistiksel analizi sonucunda, incelenen varyasyon kaynaklarından adaptasyon uygulaması, stres süresi ve adaptasyon uygulaması x stres süresi interaksyonunun azalma oranı üzerine $P<0.001$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). *L. acidophilus* için optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde ısı adaptasyon uygulamasının sonundaki sayım sonuçlarının başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısına oranlarına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çizelge incelendiğinde en düşük

azalma oranı çoğalma evresinde bulunan 4°C’de 18 saat süresince ısıl adaptasyonu sağlanan *L. acidophilus* için belirlenirken, en yüksek azalma oranı çoğalma evresinde bulunan 20°C’de 18 saat süresince ısıl adaptasyonu sağlanan *L. acidophilus* için tespit edilmiştir. -20°C’de uygulanan stres süresi uzadıkça *L. acidophilus* sayısındaki azalma oranı artmıştır.

Çizelge 4.5. *L. acidophilus* için optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyon uygulamasının sonundaki sayım sonuçlarının başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısına oranlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyonu sağlanan <i>L. acidophilus</i> 'un sayısının stres uygulaması (-20°C’de 30 gün süresince depolama) sonucundaki azalma oranı (%)		
	S. D	K.O	F
Adaptasyon Uygulama Normu (AUN)	65	248.94388	1185.90***
Stres süresi (SS)	2	14892.50302	70943.8***
AUNxSS	130	96.25558	458.54***
Hata	198	0.20992	

*** $P < 0,001$ düzeyinde önemli

Çizelge 4.6. *L. acidophilus* için optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyon uygulamasının sonundaki sayım sonuçlarının başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısına oranlarına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Adaptasyon Uygulama Normu			Optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde ısıl adaptasyonu sağlanan <i>L. acidophilus</i> 'un sayısının stres uygulaması (-20°C’de 30 gün süresince depolama) sonucundaki azalma oranı (%)
Sıcaklık (°C)	Süre (Saat)	Gelişim Evresi	
4	18	Çoğalma	1.0±0.8
4	24	Çoğalma	1.8±1.2
4	7	Çoğalma	4.4±3.7
10	3	Çoğalma	4.7±2.8
10	18	Çoğalma	5.2±3.8
10	2	Çoğalma	5.4±2.8
10	4	Çoğalma	5.9±4.4
10	0.5	Çoğalma	6.1±4.7
10	7	Çoğalma	6.3±4.6
4	6	Çoğalma	6.4±4.7
4	5	Çoğalma	6.9±4.3
10	1	Çoğalma	7.1±4.1
4	4	Çoğalma	7.4±4.5
4	3	Çoğalma	8.0±5.2
10	0	Durma	8.0±6.3
10	5	Çoğalma	8.1±6.1
10	2	Durma	8.3±6.4
4	1	Durma	8.6±4.3
10	18	Durma	8.6±6.1

Devamı Arkada

Çizelge 4.6'nın Devamı

10	0	Çoğalma	8.8±6.9
10	0.5	Durma	9.1±7.5
10	7	Durma	9.1±7.9
20	0	Durma	9.2±5.0
4	5	Çoğalma	9.5±6.3
4	2	Durma	9.6±6.4
4	3	Durma	9.7±5.7
4	0	Durma	9.8±5.9
10	24	Çoğalma	10.3±9.8
4	1	Durma	10.6±6.8
4	6	Durma	10.7±6.8
10	3	Durma	10.8±8.2
10	5	Durma	10.9±11.0
4	7	Durma	10.9±6.4
20	0.5	Çoğalma	11.0±8.4
4	2	Durma	11.1±6.5
4	18	Durma	11.1±7.0
4	0	Çoğalma	11.6±7.5
4	4	Durma	11.6±7.0
10	4	Durma	11.7±12.0
4	0.5	Çoğalma	12.3±7.6
4	0.5	Durma	12.5±7.4
10	1	Durma	12.5±12.1
10	6	Durma	12.6±9.8
20	1	Çoğalma	13.1±10.1
4	24	Durma	13.2±7.1
10	6	Çoğalma	13.6±11.0
20	0	Çoğalma	14.0±10.0
10	24	Çoğalma	14.5±3.6
20	3	Çoğalma	16.7±12.6
20	4	Çoğalma	16.8±13.3
20	2	Çoğalma	16.9±11.3
20	2	Durma	17.1±11.0
20	4	Durma	17.9±12.3
20	7	Durma	18.0±12.5
20	3	Durma	19.1±11.8
20	6	Durma	19.2±14.7
20	5	Durma	19.4±13.3
20	0.5	Durma	19.5±12.6
20	1	Durma	20.2±14.3
20	6	Çoğalma	20.7±19.1
20	5	Çoğalma	21.7±14.6
20	7	Çoğalma	23.6±19.7
20	24	Durma	27.2±21.9
20	18	Durma	27.4±21.2
20	24	Çoğalma	29.6±23.3
20	18	Çoğalma	31.7±22.9

Stres Süresi
(-20°C'de)

1.gün	1.8±1.4c**
15.gün	12.9±7.7b
30.gün	23.0±12.5a

* Farklı hizalardaki çizgilerle gösterilen ortalama değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

** Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

L. acidophilus için optimum gelişme sıcaklığının üstündeki sıcaklık değerlerinde ısı adaptasyon uygulamasının sonundaki sayım sonuçlarının başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısına oranlarının istatistiksel analizi sonucunda, incelenen varyasyon kaynaklarından adaptasyon uygulaması, stres süresi ve adaptasyon uygulaması x stres süresi interaksiyonunun azalma oranı üzerine $P < 0.001$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.7). *L. acidophilus* için optimum gelişme sıcaklığının üstündeki sıcaklık değerlerinde ısı adaptasyon uygulamasının sonundaki sayım sonuçlarının başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısına oranlarına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde en düşük azalma oranı çoğalma evresinde bulunan 45°C’de 15 dakika adapte edilen *L. acidophilus* için belirlenmiştir. -20°C’de uygulanan stres süresi uzadıkça *L. acidophilus* sayısındaki azalma oranı artmıştır.

Çizelge 4.7. *L. acidophilus* için optimum gelişme sıcaklığının üstündeki sıcaklık değerlerinde ısı adaptasyon uygulamasının sonundaki sayım sonuçlarının başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısına oranlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Optimum gelişme sıcaklığının üstündeki sıcaklık değerlerinde ısı adaptasyonu sağlanan <i>L. acidophilus</i> ’un sayısının stres uygulaması (-20°C’de 30 gün süresince depolama) sonucundaki azalma oranı (%)		
	S. D	K. O	F
Adaptasyon Uygulama Normu (AUN)	65	6648.2666	13020.6***
Stres süresi (SS)	2	7912.0110	15495.6***
AUNxSS	130	176.2424	345.17***
Hata	198	0.510597	

*** $P < 0.001$ düzeyinde önemli

Çizelge 4.8. *L. acidophilus* için optimum gelişme sıcaklığının üstündeki sıcaklık değerlerinde ısı adaptasyonu uygulamasının sonundaki sayım sonuçlarının başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısına oranlarına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Adaptasyon Uygulama Normu			Optimum gelişme sıcaklığının üstündeki sıcaklık değerlerinde ısı adaptasyonu sağlanan <i>L. acidophilus</i> 'un sayısının stres uygulaması (-20°C'de 30 gün süresince depolama) sonucundaki azalma oranı (%)
Sıcaklık (°C)	Süre (Saat)	Gelişim Evresi	
45	0.25	Çoğalma	7.5±3.9 *
45	0	Çoğalma	10.4±6.2
50	0	Çoğalma	11.0±7.2
50	0.25	Çoğalma	13.0±7.9
55	0	Çoğalma	13.3±5.9
50	0	Durma	14.4±9.7
45	0	Durma	14.5±6.1
45	0.5	Çoğalma	15.6±9.1
55	0	Durma	16.8±10.6
45	0.25	Durma	20.6±11.6
45	1	Çoğalma	22.4±13.1
45	1.5	Çoğalma	22.5±13.1
45	0.5	Durma	30.9±20.0
50	0.5	Çoğalma	35.0±0.7
45	2	Çoğalma	36.6±15.4
50	3	Çoğalma	37.5±0.9
45	1	Durma	40.2±21.7
50	2	Çoğalma	40.5±1.6
50	4	Çoğalma	40.5±1.8
45	3	Çoğalma	41.6±2.0
50	1	Çoğalma	41.7±1.4
45	3	Durma	42.0±11.0
50	1.5	Çoğalma	43.9±2.6
55	0.25	Çoğalma	45.1±1.1
45	1.5	Durma	45.4±21.4
50	0.25	Durma	47.3±23.1
45	5	Çoğalma	56.1±7.9
45	4	Çoğalma	56.9±9.4
55	0.5	Çoğalma	57.0±6.3
45	18	Çoğalma	61.3±2.1
45	4	Durma	61.3±18.3
45	2	Durma	61.3±22.3
50	0.5	Durma	64.9±24.4
50	1	Durma	66.7±21.0
55	1	Çoğalma	71.8±7.9
45	5	Durma	74.9±20.3
50	1.5	Durma	81.9±13.6

Devamı Arkada

Çizelge 4.8'in Devamı

45	18	Durma	86.8±9.4
50	2	Durma	87.7±10.8
55	0.5	Durma	91.8±11.6
55	0.25	Durma	92.5±10.6
55	1	Durma	96.0±5.8
55	1.5	Durma	98.2±3.9
45	24	Çoğalma	100.0±0.0
45	24	Durma	100.0±0.0
50	3	Durma	100.0±0.0
50	4	Durma	100.0±0.0
50	5	Çoğalma	100.0±0.0
50	5	Durma	100.0±0.0
50	18	Çoğalma	100.0±0.0
50	18	Durma	100.0±0.0
50	24	Çoğalma	100.0±0.0
50	24	Durma	100.0±0.0
55	1.5	Çoğalma	100.0±0.0
55	2	Çoğalma	100.0±0.0
55	2	Durma	100.0±0.0
55	3	Çoğalma	100.0±0.0
55	3	Durma	100.0±0.0
55	4	Çoğalma	100.0±0.0
55	4	Durma	100.0±0.0
55	5	Çoğalma	100.0±0.0
55	5	Durma	100.0±0.0
55	18	Çoğalma	100.0±0.0
55	18	Durma	100.0±0.0
55	24	Çoğalma	100.0±0.0
55	24	Durma	100.0±0.0
Stres Süresi (-20°C'de)			
1.gün		56.8±36.8c**	
15.gün		67.8±31.8b	
30.gün		71.7±30.5a	

* Farklı hizalardaki çizgilerle gösterilen ortalama değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

** Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

4.3. Fizikokimyasal analiz sonuçları

4.3.1. Probiyotik dondurma mikslерinin pH, titrasyon asitliği ve viskozite değerleri

İki farklı ısıl adaptasyon koşulunda (çoğalma evresinde 4°C'de 18 saat ve çoğalma evresinde 45°C'de 15 dakika) adapte edilen ve adapte edilmeyen *L. acidophilus* DSM 20079 ilave edilerek iki farklı üretim yöntemine göre hazırlanan dondurma mikslерinin pH, titrasyon asitliği ve viskozite değerleri Çizelge 4.9'da verilmiştir. Çizelgeden görüleceği üzere dondurma mikslерinin ortalama pH değerlerinin 5.50-6.48 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.9. Probiyotik dondurma mikslерinin ortalama pH, titrasyon asitliği ve viskozite değerleri

Örnek*	pH	Titrayon asitliği (%)	Viskozite (cP)
A	5.52±0.00	0.42±0.00	13058.2±455.6
B	5.53±0.00	0.42±0.02	11805.5±2277.0
C	5.50±0.00	0.42±0.02	12805.5±363.2
D	6.40±0.00	0.19±0.02	9312.7±787.3
E	6.42±0.00	0.19±0.03	7908.2±136.8
F	6.48±0.00	0.20±0.02	7066.4±356.9

*A:1. yöntemе göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma miksi, B:1. yöntemе göre üretilen ve 45°C’de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma miksi, C:1. yöntemе göre üretilen ve 4°C’de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma miksi, D:2. yöntemе göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma miksi, E:2. yöntemе göre üretilen ve 45°C’de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma miksi, F:2. yöntemе göre üretilen ve 4°C’de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma miksi.

Probiyotik dondurma üretiminde kullanılan mikslерin pH değerlerinin istatistiksel analizi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarından üretim yönteminin dondurma miksinin pH değeri üzerine $P<0.001$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.10). Bunun yanı sıra üretim yöntemi x adaptasyon uygulaması interaksyonunun dondurma miksinin pH değeri etkisinin $P<0.01$ düzeyinde önemli olduğu belirlenmiş iken, adaptasyon uygulamasının etkisi ($P>0.05$) önemsiz bulunmuştur.

Probiyotik dondurma üretiminde kullanılan mikslere ait ortalama pH değerlerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir. Bu sonuçlara göre 1. üretim yönteminde kullanılan mikslерin pH değerlerinin, 2. üretim yönteminde kullanılan mikslерin pH değerlerine göre düşük olduğu belirlenmiştir. Birinci üretim yönteminde probiyotik bakteri ile fermente edildiğinden dolayı dondurma mikslерinin pH değerleri daha düşük olmuştur. İkinci üretim yönteminde dondurma üretiminde kullanılan miksin direkt dondurmaya işlenmesi, bu üretim yönteminde kullanılan miksin pH değerinin diğer üretim yönteminde kullanılan mikslere göre yüksek olmasının sebebiidir.

Çizelge 4.10. Probiyotik dondurma mikslерinin pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	pH		
	S. D	K.O	F
Üretim Yöntemi (ÜY)	1	5.05083750	7623.91***
Adaptasyon Uygulaması (AU)	2	0.00155000	2.34
ÜY X AU	2	0.00545000	8.23**
Hata	18	0.000663	

** $P<0.01$ düzeyinde önemli, *** $P<0.001$ düzeyinde önemli

Çizelge 4.11. Probiyotik dondurma mikslерinin pH değеrlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	pH
Üretim Yöntemi	
1. Yöntem	5.52±0.0b
2. Yöntem	6.44±0.0a
Adaptasyon Uygulaması	
Adapte Olmayan	5.96±0.40a
45°C-15dk Adaptasyon	5.97±0.50a
4°C-18 saat Adaptasyon	5.99±0.50a

Farklı harfle işaretlenen ortalama değеrler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

Çizelge 4.9'dan görüleceği üzere dondurma mikslерinin ortalama titrasyon asitliği değеrlerinin %0.19-%0.42 arasında değiştii belirlenmiştir. Probiyotik dondurmaların titrasyon asitliği değеrlerinin istatistiksel olarak değеrlendirilmesi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarından üretim yöntemi dondurma mikslерinin titrasyon asitliği değeri üzerine $P<0.001$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Probiyotik dondurma mikslерinin titrasyon asitliği değеrlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Titrasyon Asitliği (%)		
	S. D	K.O	F
Üretim Yöntemi (ÜY)	1	0.29657512	4730.32***
Adaptasyon Uygulaması (AU)	2	0.00014440	2.30
ÜY X AU	2	0.00016183	2.58
Hata	18	0.000063	

*** $P<0.001$ düzeyinde önemli

Probiyotik dondurma üretiminde kullanılan mikslere ait ortalama titrasyon asitliği değеrlerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.13'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde birinci üretim yönteminde kullanılan dondurma mikslерinin titrasyon asitliği değеrlerinin ikinci üretim yönteminde kullanılan dondurma mikslерine göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Birinci üretim yönteminde dondurma miksinin probiyotik bakteri ile fermente edilmesi, dondurma mikslерinin titrasyon asitliği değеrlerinin farklı olmasına neden olmuştur. *L. acidophilus*'a adaptasyon uygulamanın dondurma mikslерinin titrasyon asitliği değеrleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.

Turgut ve Çakmakçı (2009), *L. acidophilus*'u kullanarak ürettikleri probiyotik dondurma mikslерinin pH değеrlerini 5.46 ile 5.60 arasında tespit ederken, probiyotik bakteri içermeyen kontrol örneğinin pH değеrinin 6.29 ile 6.35 arasında olduğunu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada, titrasyon asitliği değеrleri *L. acidophilus* içeren dondurma miksinde %0.51-%0.54 arasında bulunurken, kontrol örneğinde %0.33-%0.35 arasında saptanmıştır. Abghari vd (2011) farklı probiyotik bakterilerle ve fermantasyon işlemleri uygulamadan ürettikleri dondurma mikslерinin pH değеrlerini 6.10 ile 6.50, titrasyon asitliği değеrlerini ise %0.18 ile %0.23 arasında belirlemişlerdir. Elde edilen

sonuçlar konu ile ilgili yapılmış olan diğer çalışmalarda tespit edilen verilere benzer bulunmuştur.

Çizelge 4.13. Probiyotik dondurma mikslерinin titrasyon asitliği değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	Titrasyon Asitliği (%)
Üretim Yöntemi	
1. Yöntem	0.42±0.00a
2. Yöntem	0.20±0.00b
Adaptasyon Uygulaması	
Adapte Olmayan	0.30±0.10a
45°C-15dk Adaptasyon	0.31±0.20a
4°C-18 saat Adaptasyon	0.31±0.10a

Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

Farklı üretim yöntemleri kullanılarak üretilen dondurma mikslерinde belirlenen ortalama viskozite değerleri Çizelge 4.9'da verilmiştir. Çizelgeden görüleceği üzere dondurma mikslерinin ortalama viskozite değerlerinin 7066.4 cP ile 13058.2 cP arasında değiştiği belirlenmiştir. Probiyotik dondurma üretiminde kullanılan mikslерin viskozite değerlerinin istatistiksel analizi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarından üretim yönteminin dondurma miksinin viskozite değeri üzerine $P<0.001$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Probiyotik dondurma mikslерinin viskozite değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Viskozite (cP)		
	S. D	K.O	F
Üretim Yöntemi (ÜY)	1	119382038.6	85.41***
Adaptasyon Uygulaması (AU)	2	4443858.4	3.18*
ÜY X AU	2	2463309.6	1.76
Hata	18	1397766	

* $P<0.05$ düzeyinde önemli, *** $P<0.001$ düzeyinde önemli

Probiyotik dondurma üretiminde kullanılan mikslere ait ortalama viskozite değerlerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.15'de verilmiştir. Çizelge 4.15 incelendiğinde 1. yöntem kullanılarak üretilen dondurma miksine ait viskozite değerinin, 2. yöntem kullanılarak elde edilen dondurma mikslерine ait değerlere göre yüksek olduğu görülmektedir. Birinci yöntem kullanılarak hazırlanan dondurma mikslерinin viskozite değerlerinin ikinci yöntem kullanılarak hazırlanan dondurma mikslерinin viskozite değerlerine göre yüksek olmasının nedeninin fermantasyon işlemi sırasında asitliğin yükselmesi sonucunda kazein misellerinin kümeleşmeye başlaması olarak açıklanabilmektedir (Schkoda vd 1999, Abghari 2011). Ayrıca adaptasyonu sağlanmayan *L. acidophilus*'un kullanıldığı dondurma miksinin viskozite değerinin adaptasyonu sağlanan *L. acidophilus*'un kullanıldığı dondurma mikslерine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.15). Söz konusu durumun adaptasyon sırasında probiyotik bakterinin daha uzun süre canlı kalabilmek için metabolik aktivitesini azaltmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Mcdougald vd 1998, Lahtinen vd 2008).

Çizelge 4.15. Probiyotik dondurma mikslarının viskozite değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	Viskozite (cP)
Üretim Yöntemi	
1. Yöntem	12556.0±1460.8a
2. Yöntem	8095.8±1055.4b
Adaptasyon Uygulaması	
Adapte Olmayan	11185.5±3980.2a
45°C-15dk Adaptasyon	9856.8±3909.4b
4°C-18 saat Adaptasyon	9935.9± 4145.5b

Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

Turgut ve Çakmakçı (2009), farklı probiyotik bakterilerin kullanıldığı ve farklı oranlarda krema içeren dondurma mikslarının viskozite değerlerini 10100 cP ile 11200 cP arasında tespit etmişlerdir. Elde edilen sonuçların belirtilen çalışmada bulunan değerler ile uyumlu olduğu görülmüştür.

4.3.2. Probiyotik dondurma örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerleri

Farklı üretim yöntemleri kullanılarak üretilen dondurma örneklerinde belirlenen ortalama pH ve titrasyon asitliği değerleri Çizelge 4.16'da verilmiştir. Çizelgeden görüleceği üzere dondurma örneklerinin ortalama pH değerlerinin 5.52 ile 6.47 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.16. Probiyotik dondurmaların ortalama pH ve titrasyon asitliği değerleri

Örnek*	pH	Titrasyon asitliği (%)
A	5.55±0.00	0.33±0.01
B	5.52±0.02	0.34±0.02
C	5.52±0.02	0.35±0.01
D	6.40±0.02	0.13±0.00
E	6.41±0.03	0.13±0.00
F	6.47±0.02	0.13±0.00

*A:1. yöntemle göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, B:1. yöntemle göre üretilen ve 45°C'de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, C:1. yöntemle göre üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, D:2. yöntemle göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, E:2. yöntemle göre üretilen ve 45°C'de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, F:2. yöntemle göre üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma

Probiyotik dondurmaların pH değerlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarından üretim yöntemi ve adaptasyon uygulamasının dondurmanın pH değeri üzerine sırasıyla $P<0.001$ ve $P<0.05$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.17). Ayrıca üretim yöntemi x adaptasyon uygulaması etkileşiminin probiyotik dondurmanın pH değeri üzerine etkisinin $P<0.01$ düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Probiyotik dondurma örneklerinin pH değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre

dondurma mikslarının pH değerlerine benzer şekilde 1. üretim yöntemi ile üretilen dondurmanın pH değerinin 2. üretim yöntemi ile üretilen dondurmanın pH değerine göre düşük olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.18). Üretimlerinde 4°C’de 18 saat adapte edilen *L. acidophilus* kullanılan dondurma örneklerinin pH değerlerinin 45°C’de 15 dakika adapte edilen *L. acidophilus* kullanılarak üretilen dondurma örneklerine göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Adaptasyon uygulaması yapılmadan kullanılan *L. acidophilus* ile üretilen dondurma örneğinin pH değerinin, adapte edilen *L. acidophilus* kullanılarak üretilen dondurma örneklerinin pH değerleri ile istatistik açıdan farklılık göstermediği belirlenmiştir.

Çizelge 4.17. Probiyotik dondurmaların pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	pH		
	S. D	K.O	F
Üretim Yöntemi (ÜY)	1	10258.5	10258.5***
Adaptasyon Uygulaması (AU)	2	0.00203750	4.28*
ÜY X AU	2	0.00578750	12.15**
Hata	18	0.000476	

* $P < 0.05$ düzeyinde önemli, ** $P < 0.01$ düzeyinde önemli, *** $P < 0.001$ düzeyinde önemli

Çizelge 4.18. Probiyotik dondurma örneklerinin pH değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Üretim Yöntemi	pH
	1. Yöntem
2. Yöntem	6.43±0.04a
Adaptasyon Uygulaması	
Adapte Olmayan	5.98±0.43ba
45°C-15dk Adaptasyon	5.97±0.45b
4°C-18 saat Adaptasyon	6.00±0.48a

Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

Çizelge 4.16’den görüleceği üzere dondurma örneklerinin ortalama titrasyon asitliği değerlerinin %0.13 ile %0.35 arasında değiştiği belirlenmiştir. Probiyotik dondurmaların titrasyon asitliği değerlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarından üretim yönteminin dondurmanın titrasyon asitliği değeri üzerine $P < 0.001$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.19). Dondurma mikslarının titrasyon asitliği değerlerine benzer şekilde 1. üretim yöntemi ile üretilen dondurmanın titrasyon asitliği değerinin 2. üretim yöntemi ile üretilen dondurmanın titrasyon asitliği değerine göre yüksek olduğu saptanmıştır. Adaptasyon işleminin probiyotik dondurma örneklerinin titrasyon asitliği değerleri üzerine önemli etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.20).

Vijayageetha vd (2011), dondurma mikslarına %1 ve %2 oranında *L. acidophilus* ilave ederek ve probiyotik bakteri ilave etmeden ürettikleri dondurma örneklerinde pH değerlerini sırasıyla 5.74, 5.56 ve 6.60 olarak belirlerken, titrasyon asitliği değerlerini laktik asit cinsinden sırasıyla % 0.33, %0.43 ve %0.23 olarak tespit etmişlerdir. Konu ile

ilgili yapılan farklı bir çalışmada *L. acidophilus*'un probiyotik bakteri olarak kullanıldığı dondurma örneğinin ve probiyotik bakteri içermeyen kontrol örneğinin ortalama pH değerleri sırasıyla 5.76 ve 6.34 olarak tespit edilirken, titrasyon asitliği değerleri sırasıyla %0.54 ve %0.34 olarak saptanmıştır (Turgut ve Çakmakçı 2009). Çalışma sonunda tespit edilen pH ve titrasyon asitliği değerleri anılan araştırmalardaki değerler ile uyumluluk göstermiştir.

Çizelge 4.19. Probiyotik dondurmaların titrasyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Titrasyon Asitliği (%)		
	S. D	K.O	F
Üretim Yöntemi (ÜY)	1	0.26571728	1807.46***
Adaptasyon Uygulaması (AU)	2	0.00008581	0.58
ÜY X AU	2	0.00008581	0.58
Hata	18	0.000147	

*** $P < 0.001$ düzeyinde önemli

Çizelge 4.20. Probiyotik dondurma örneklerinin titrasyon değerlerine (%) ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Üretim Yöntemi	Titrasyon Asitliği (%)
	1. Yöntem
2. Yöntem	0.13±0.00b
Adaptasyon Uygulaması	
Adapte Olmayan	0.24±0.15a
45°C-15dk Adaptasyon	0.23±0.15a
4°C-18 saat Adaptasyon	0.24±0.15a

Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

4.3.3. Probiyotik dondurma örneklerine ait kurumadde, kül, yağ, protein ve toplam şeker miktarı

Dondurma örneklerine ait ortalama kurumadde, kül, yağ, protein ve toplam şeker miktarları Çizelge 4.21'de verilmiştir. Örneklere ait söz konusu değerler sadece depolamanın ilk gününde belirlenmiştir. Araştırmada probiyotik dondurma örneklerine ait ortalama toplam kurumadde değeri, %27.41 ile %29.60, ortalama kül içeriği %0.75 ile %0.87, ortalama yağ miktarı %2.78 ile %2.93, ortalama protein değeri %3.69 ile %4.01 ve ortalama toplam şeker miktarı %19.65 ile %22.29 arasında belirlenmiştir.

Çizelge 4.21. Probiyotik dondurma örneklerine ait kurumadde, kül, yağ, protein ve toplam şeker miktarı

Örnek*	Kurumadde (%)	Kül (%)	Yağ (%)	Protein (%)	Toplam şeker (%)
A	29.60±0.53	0.75±0.05	2.85±0.15	3.79±0.11	20.92±0.55
B	28.33±0.78	0.75±0.05	2.93±0.25	3.78±0.01	19.65±0.39
C	29.34±0.65	0.79±0.05	2.93±0.13	3.85±0.02	21.10±0.85
D	28.31±0.44	0.85±0.03	2.78±0.33	3.69±0.09	22.29±0.78
E	27.41±0.19	0.83±0.05	2.78±0.13	4.01±0.01	21.03±0.81
F	28.83±0.80	0.87±0.01	2.93±0.13	3.93±0.09	22.02±0.59

*A:1. yöntemle göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, B:1. yöntemle göre üretilen ve 45°C'de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, C:1. yöntemle göre üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, D:2. yöntemle göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, E:2. yöntemle göre üretilen ve 45°C'de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, F:2. yöntemle göre üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma.

Işık (2005) yapmış olduğu çalışmada farklı formülasyonlar kullanarak ürettiği yoğurt dondurmalarının yağ miktarlarının %3.0 ile %6.2 arasında; kül içeriğinin %0.8 ile %0.9 arasında; toplam şeker içeriklerinin %21.8 ile %23.6 arasında ve protein değerlerinin %2.9 ile %3.3 arasında değiştiğini tespit etmiştir. Akalın ve Erişir (2008)'in, düşük yağlı probiyotik dondurmanın reolojik özelliklerine ve içerdiği probiyotik kültürlerin canlılığına inülin ve oligofruktozun etkisini inceledikleri bir çalışmada, ortalama kurumadde değerini %33.44; yağ değerini %4.00 olarak saptamıştır. Yapılan farklı bir çalışmada farklı probiyotik bakteriler kullanılarak üretilen çilekli dondurmaların kurumadde değerleri %27.91 ile %29.29; yağ değerleri %5.77-%5.90 arasında bulunmuştur (Vardar ve Öksüz 2007). Vijayageetha vd (2011), farklı probiyotik bakterilerin ve yoğurt bakterilerinin dondurmaların fizikokimyasal özellikleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, dondurmaların protein değerlerinin %4.10 ile %4.13 arasında değiştiğini saptamışlardır. Senanayake vd (2013)'nin yapmış oldukları çalışmada, meyveli probiyotik dondurmanın ortalama kurumadde, yağ ve protein değerlerini sırasıyla %42.00, %11.20 ve %16.50 olarak tespit etmiştir. Farklı ambalaj materyallerinin probiyotik dondurmaya etkisinin incelendiği bir araştırmada, dondurmaların kurumadde değerleri %37.50-38.58; protein değerleri %4.41-%4.46; yağ değerleri %9.50-%9.67 ve kül değerleri %1.27-%1.29 arasında belirlenmiştir (Ranadheera vd 2013). Çalışma sonunda bulunan kurumadde, yağ, protein, kül ve toplam şeker değerleri yapılan diğer çalışmalarla genel olarak benzerlik göstermekle birlikte, ortaya çıkan bazı farklılıkların dondurma miksini hazırlamada kullanılan farklı formülasyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3.4. Probiyotik dondurmalara ait sertlik ve hacim artışı (over-run) değerleri

Probiyotik dondurmalara ait sertlik ve hacim artışı değerleri Çizelge 4.22'de verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi örneklere ait sertlik değerleri 5.70N ile 8.63N arasında; hacim artışı değerleri %57.36 ile %66.68 arasında değişmektedir.

Çizelge 4.22. Probiyotik dondurmalara ait sertlik ve hacim artışı (over-run) değerleri

Örnek*	Sertlik (N)	Hacim artışı (%)
A	5.70±0.32	65.70±2.16
B	5.84±0.55	66.68±2.19
C	6.73±0.75	65.56±2.01
D	8.37±0.88	61.45±3.41
E	8.26±0.59	57.36±2.16
F	8.63±0.48	58.00±2.13

*A:1. yöntemle göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, B:1. yöntemle göre üretilen ve 45°C'de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, C:1. yöntemle göre üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, D:2. yöntemle göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, E:2. yöntemle göre üretilen ve 45°C'de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, F:2. yöntemle göre üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma.

Probiyotik dondurma örneklerinin sertlik değerlerinin istatistiksel analizi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarından üretim yönteminin dondurma örneklerinin sertlik değeri üzerine $P<0.001$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.23). Probiyotik dondurma örneklerine ait ortalama sertlik değerlerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.24'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde 2. yöntemle göre üretilen dondurmaların sertlik değerlerinin 1. yöntemle göre üretilen dondurma örneklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Birinci yöntemin kullanıldığı üretim sırasındaki fermantasyon işleminin örneklerdeki sertlik değerlerinin düşmesine neden olduğu düşünülmektedir.

Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada farklı yağ ve şeker konsantrasyonlarında üretilen probiyotik dondurmaların sertlik değerleri 3.1 N ile 41.8 N arasında tespit edilmiştir (Alamprese vd 2002). *Lactobacillus rhamnosus* GG'nin dondurmaya etkisinin incelendiği bir araştırmada dondurma örneklerine ait sertlik değerleri 3.8 N ile 56.4 N olarak belirlenmiştir (Alamprese vd 2005). Küçükçetin vd (2009)'in yaptıkları probiyotik dondurma çalışmasında tüm depolama periyodu süresince örneklere ait sertlik değerleri 6.2 N ile 19.2 N arasında değişmiştir. Örneklere ait sertlik değerleri literatürde belirtilen verilere benzer bulunmuştur.

Çizelge 4.23. Probiyotik dondurmaların sertlik değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Sertlik (N)		
	S. D	K.O	F
Üretim Yöntemi (ÜY)	1	30.60041667	60.30 ***
Adaptasyon Uygulaması (AU)	2	1.30377917	2.57
ÜY X AU	2	0.19062917	0.38
Hata	18	0.507439	

* $P<0.05$ düzeyinde önemli, ** $P<0.01$ düzeyinde önemli, *** $P<0.001$ düzeyinde önemli

Çizelge 4.24. Probiyotik dondurma örneklerinin sertlik değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	Sertlik (N)
Üretim Yöntemi	
1. Yöntem	6.09±0.73b
2. Yöntem	8.35±0.71a
Adaptasyon Uygulaması	
Adapte Olmayan	6.93±1.39a
45 C-15dk Adaptasyon	7.05±1.46a
4 C-18 saat Adaptasyon	6.79±1.07a

Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

Probiyotik dondurma örneklerinin hacim artışı değerlerinin istatistiksel analizi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarından sadece üretim yönteminin dondurma örneklerinin hacim artışı değeri üzerine $P<0.001$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.25). Probiyotik dondurma örneklerine ait ortalama hacim artışı değerlerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.26'da verilmiştir. Çizelge incelendiğinde 1. yönteme göre üretilen probiyotik dondurmalarda hacim artışı değerlerinin 2. yönteme göre üretilen dondurma örneklerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 2. yönteme göre üretilen örneklerin sertlik değerlerinin diğer yönteme göre üretilen örneklere kıyasla yüksek olmasının, bu örneklerin hacim artışı değerlerinin düşük olmasına sebep olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.25. Probiyotik dondurmaların hacim artışı değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Hacim Artışı (%)		
	S. D	K.O	F
Üretim Yöntemi (ÜY)	1	297.8626042	39.10***
Adaptasyon Uygulaması (AU)	2	7.6284375	1.00
ÜY X AU	2	13.2694292	1.74
Hata	18	7.61789	

*** $P<0.001$ düzeyinde önemli

Çizelge 4.26. Probiyotik dondurma örneklerinin hacim artışı değerlerine (%) ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	Hacim Artışı (%)
Üretim Yöntemi	
1. Yöntem	65.98± 2.18a
2. Yöntem	58.93± 3.19b
Adaptasyon Uygulaması	
Adapte Olmayan	63.58 ±3.56a
45 C-15dk Adaptasyon	62.02 ±5.14a
4 C-18 saat Adaptasyon	61.78 ±4.31a

Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

Akın (2005), inülinin ve farklı şeker seviyelerinin probiyotik dondurmaların fiziksel ve duyuşal özellikleri ile probiyotik bakterilerin canlılık durumları üzerine etkilerini incelemek amacıyla yaptığı çalışmada hacim artışı değerlerinin %27.80 ile %32.30 arasında değiştini saptamıştır. Turgut ve Çakmakçı (2009), farklı probiyotik bakterilerin kullanıldığı ve farklı oranlarda krema içeren dondurma mikslerinden ürettikleri dondurma örneklerinin hacim artışı değerlerini %30.38 ile %44.55 arasında tespit etmişlerdir. Vijayageetha vd (2011), *L. acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* ve yoğurt bakterilerinin dondurmaların fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada hacim artışı değerlerini fermente edilmeyen dondurma miksinden üretilen kontrol örneğinde %60.40 olarak tespit ederken, fermente edilmiş mikslerden üretilen dondurma örneklerinde %53.00-%53.90 arasında belirlemişlerdir. Örneklere ait hacim artışı değerlerinin literatürdeki çalışmalardan genel olarak yüksek olduğu belirlenmiş olup söz konusu farklılığın dondurma miksi bileşimi, kullanılan probiyotik bakteri suşu ve üretim yöntemlerinden kaynaklandığı değerlendirilmiştir.

4.3.5. Probiyotik dondurmalara ait erime miktarları

10. dakikadan 60. dakikaya kadar, dondurma örneklerinin erime miktarları Çizelge 4.27’de verilmiştir. 1. ve 2. yöntemine göre üretilen probiyotik dondurma örneklerinde 10 dakikada belirlenen erime miktarları sırasıyla 0.00-0.08 g ile 0.36-0.45 g arasında değişim gösterirken, 60. dakikada belirlenen erime miktarları sırasıyla 14.33-16.59 g ile 14.29-16.47 g’dir. Birinci yöntemine göre üretilen dondurma örneklerinin ilk 20 dakikadaki erime miktarlarının 2. yöntemine göre üretilen dondurma örneklerinden daha az olduğu tespit edilirken, sonraki ölçüm dakikalarında farklı üretim yöntemine göre üretilen dondurma örneklerinin erime miktarlarının benzer değerlerde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.27. Probiyotik dondurmaların ortalama erime miktarları (g)

Örnek*	Erime Miktarları (g)					
	10 dk.	20 dk.	30 dk.	40 dk.	50 dk.	60 dk.
A	0.08±0.14	0.56±0.56	6.50±0.68	11.48±0.65	14.58±0.41	16.59±0.58
B	0.06±0.10	0.52±0.53	5.59±0.88	11.02±1.17	14.20±0.99	14.33±0.51
C	0.00±0.00	0.55±0.37	4.92±0.64	10.84±0.94	15.69±1.60	15.43±0.19
D	0.37±0.06	2.41±0.29	5.68±0.84	11.54±0.70	14.72±1.07	14.29±1.05
E	0.36±0.04	3.36±0.58	6.07±0.49	12.11±1.33	15.62±0.67	14.86±0.71
F	0.45±0.04	2.98±0.67	7.83±1.05	12.48±1.68	16.03±0.59	16.47±0.64

*A:1. yöntemine göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, B:1. yöntemine göre üretilen ve 45°C’de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, C:1. yöntemine göre üretilen ve 4°C’de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, D:2. yöntemine göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, E:2. yöntemine göre üretilen ve 45°C’de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, F:2. yöntemine göre üretilen ve 4°C’de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma.

4.3.6. Probiyotik dondurmalara ait mikrobiyolojik analiz sonuçları

Isıl adaptasyon uygulanmadan önce ve sonra sütteki ortalama *L. acidophilus* sayısı ile dondurma miksinde, üretim sonrası ve depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki ortalama *L. acidophilus* sayısı Çizelge 4.28’de verilmiştir. Çizelgelerden de görüldüğü gibi üretim yönteminden bağımsız olarak sütteki ve dondurma miksindeki

ortalama *L. acidophilus* sayısı sırasıyla 9.56-9.96 log kob/ml ve 8.14-8.73 log kob/g arasında değişmiştir. Depolamanın 1. gününde dondurma örneklerinde ortalama *L. acidophilus* sayısı 7.81-8.34 log kob/g arasında, 90. gününde ise 7.69-8.25 log kob/g arasında belirlenmiştir. Probiyotik dondurma yapımında kullanılan mikslerin dondurmaya işlenmesi sırasında ve dondurmalarda depolama süresince *L. acidophilus* sayısında azalma olduğu görülmektedir (Çizelge 4.28). Dondurma mikslерindeki *L. acidophilus* sayısı dondurmaya işleme sırasında logaritmik olarak 0.14 ile 0.39 birim düşüş göstermiştir. Örnekler probiyotik bakterinin ürünlerdeki bulunabilirliği açısından değerlendirildiğinde, 90. günün sonunda dondurmaların yeterli sayıda *L. acidophilus* içerdiği saptanmıştır.

Şener (2009) yaptığı çalışmada *L. acidophilus* LA-5 ve *B. animalis* subsp. *Lactis* BB-12 probiyotik bakteri suşlarının serbest ve mikroenkapsüle formları ile farklı prebiyotiklerin dondurma üretiminde kullanılabilirliğini araştırmıştır. Dondurma işlemi sırasında mikse göre bakteri sayısında en fazla azalış 0.3-0.4 log düzeyinde olmuştur. 4 aylık -22°C'de depolama periyodunun sonunda tüm dondurma örneklerinde *L. acidophilus* LA-5 sayısının 7.1 log kob/g ile 7.3 log kob/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Nousia vd (2011), liyofilize *L. acidophilus* LMGP-21381 bakterisini MRS sıvı besiyerinde aktif hale getirerek ve aktif hale getirmeden direkt olarak probiyotik dondurma üretiminde kullanmışlardır. Liyofize halde direkt dondurma üretiminde kullanılan *L. acidophilus* LMGP-21381 sayısı dondurma işleminden sonra mikse göre %10.9 azalış gösterirken, aktif hale getirilerek kullanılan *L. acidophilus* LMGP-21381'in sayısında azalma saptanmamıştır. Araştırmacılar 45 hafta -25°C'de depolanan probiyotik dondurma örneklerinde *L. acidophilus* LMGP-21381 sayısının 6.91 log kob/g ile 7.55 log kob/g arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Abghari vd (2011)'nin *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus*'un probiyotik dondurma üretiminde kullanım olanaklarını araştırdıkları bir çalışmada, dondurma işleminden sonra logaritmik olarak *L. acidophilus*'un sayısında 0.28, *L. rhamnosus* sayısında ise 0.33 birimlik azalma olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada 12 haftalık depolama periyodunun sonunda ise örneklerdeki *L. acidophilus* sayısının başlangıca göre 1 log azalma göstererek yaklaşık 7.26 log kob/g olduğu belirlenirken, *L. rhamnosus* sayısında depolama süresince önemli bir azalma olmadığı tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları, daha önce farklı araştırmacılar tarafından yapılmış olan probiyotik dondurmalarındaki probiyotik bakteri sayısının miksten dondurmaya geçiş sürecindeki değişimi konusunda benzerlik göstermekle birlikte, depolama sonundaki *L. acidophilus* sayısındaki azalma oranının daha düşük olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.28. Isıl adaptasyon uygulanmadan önce ve sonra sütteki ortalama *L.acidophilus* sayısı ile dondurma miksinde, üretim sonrası ve depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki ortalama *L.acidophilus* sayısı

Örnek*	Süt (log kob/ml)	Adaptasyon Sonrası Süt (log kob/ml)	Dondurma Miksi (log kob/g)	Depolama süresince dondurma örneklerinde <i>L.acidophilus</i> sayısı (log kob/g)			
				1.gün	30.gün	60.gün	90.gün
A	9.87±0.09	.*	8.14±0.09	7.81±0.18	7.76±0.15	7.74±0.14	7.69±0.17
B	9.79±0.10	9.73±0.05	8.43±0.10	8.29±0.05	8.28±0.05	8.26±0.05	8.23±0.05
C	9.56±0.06	9.72±0.12	8.44±0.06	8.29±0.09	8.28±0.09	8.27±0.08	8.25±0.05
D	9.96±0.07	-	8.57±0.07	8.21±0.08	8.00±0.15	7.96±0.14	7.86±0.09
E	9.89±0.06	9.83±0.03	8.73±0.06	8.34±0.18	8.33±0.17	8.27±0.11	8.21±0.10
F	9.71±0.06	9.94±0.05	8.38±0.06	8.12±0.10	8.11±0.10	8.09±0.13	8.08±0.12

*A:1. yöntemle üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, B:1. yöntemle üretilen ve 45°C'de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, C:1. yöntemle üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, D:2. yöntemle üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, E:2. yöntemle üretilen ve 45°C'de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, F:2. yöntemle üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma. ** Adaptasyon uygulaması yapılmadı.

Depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki *L.acidophilus* sayısının dondurma mikslerine göre azalma oranı (%) Çizelge 4.29'da verilmiştir. Depolamanın 1. günü ile 90. günü arasında dondurma örneklerindeki *L. acidophilus* sayısının %1.69 ile %8.28 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.29. Depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki *L.acidophilus* sayısının dondurma mikslerine göre azalma oranı (%)

Örnek*	Depolama süresince dondurma örneklerindeki <i>L.acidophilus</i> sayısının dondurma mikslerine göre azalma oranı (%)			
	1.gün	30.gün	60.gün	90.gün
A	4.14±1.17	4.71±0.75	4.98±0.66	5.58±1.03
B	1.69±0.42	1.83±0.37	2.04±0.36	2.46±0.36
C	1.71±0.56	1.82±0.22	1.97±0.44	2.24±0.71
D	4.15±1.12	6.57±1.94	7.03±1.88	8.28±1.30
E	4.43±2.75	4.53±2.65	5.19±1.96	5.94±1.82
F	3.21±0.32	3.32±0.23	3.57±0.56	3.61±0.46

*A:1. yöntemle üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, B:1. yöntemle üretilen ve 45°C'de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, C:1. yöntemle üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, D:2. yöntemle üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, E:2. yöntemle üretilen ve 45°C'de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, F:2. yöntemle üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma.

Probiyotik dondurma örneklerinde depolama süresince belirlenen *L. acidophilus*'ün sayısındaki azalma oranının istatistiksel analizi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarından üretim yöntemi ve adaptasyon uygulamasının dondurma örneklerindeki *L. acidophilus* sayısının azalma oranı üzerine $P<0.001$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilirken, depolama süresinin $P<0.01$ düzeyinde etkili olduğu belirlenmiştir

(Çizelge 4.30). Depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki *L. acidophilus* sayılarının dondurma mikslarına göre azalma oranına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.31’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde 2. yöntemle üretilen dondurmalarındaki *L. acidophilus* sayısının azalma oranının 1. yöntemle üretilen örneklerden daha yüksek olduğu saptanmıştır. En düşük azalma oranının 4°C’de 18 saat adapte edilen *L. acidophilus*’un kullanıldığı dondurma örneklerinde olduğu ve bu örnekleri sırasıyla 45°C’de 15 dakika adapte edilen *L. acidophilus*’un kullanıldığı ve adapte edilmeyen *L. acidophilus*’un kullanıldığı örneklerin izlediği tespit edilmiştir. Söz konusu sonuçlar, fermantasyon işleminin ve adaptasyon uygulamasının *L. acidophilus*’un dondurma örneklerinde canlı bulunabilme durumunu olumlu etkilediğini göstermektedir. Örneklerdeki ortalama *L. acidophilus* sayısındaki azalma oranları arasındaki farklılığın depolamanın 1. ve 30. günleri, 30. ve 60. günleri ile 60. ve 90. günleri arasında istatistiki olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) bulunmuştur. Bununla birlikte depolama süresince örneklerdeki *L. acidophilus* sayısındaki azalma oranının arttığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.30. Depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki *L. acidophilus* sayısının dondurma mikslarına göre azalma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Depolama süresince dondurma örneklerindeki <i>L. acidophilus</i> sayısının dondurma mikslarına göre azalma oranı (%)		
	S.D.	K.O.	F
Üretim Yöntemi (ÜY)	1	101.2909594	48.26***
Adaptasyon Uygulaması (AU)	2	76.7015167	36.54***
Depolama Süresi (DS)	3	9.0364288	4.31**
ÜYxDS	2	5.5824125	2.66
ÜYxDS	3	1.3359260	0.64
AUxDS	6	2.1026194	1.00
ÜYxAUxDS	6	0.8107792	0.39
Hata	72	2.099002	

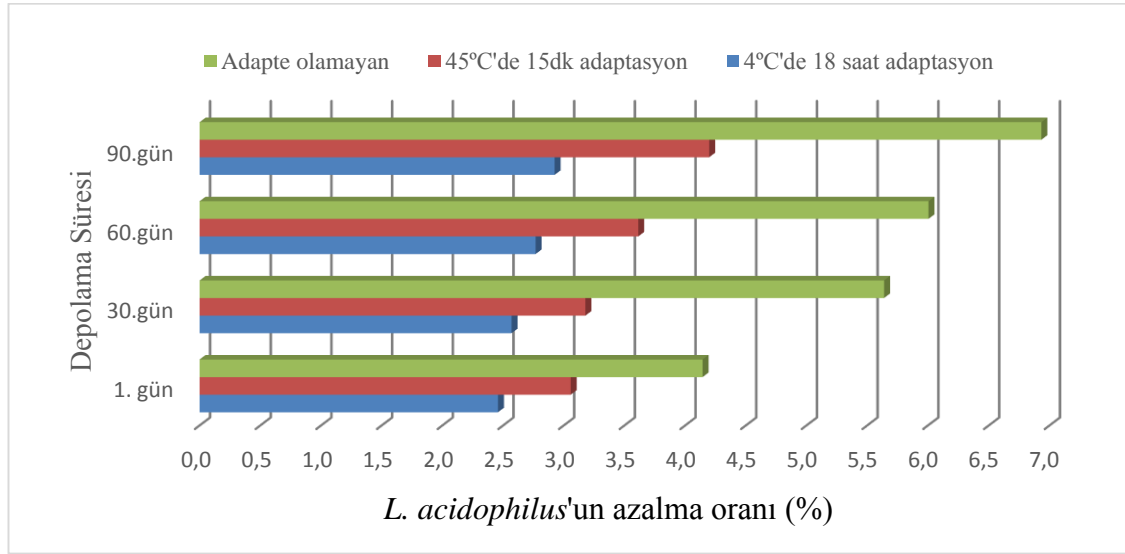
** $P<0.01$ düzeyinde önemli, *** $P<0.001$ düzeyinde önemli

Çizelge 4.31. Depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki *L. acidophilus* sayısının dondurma mikslerine göre azalma oranına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Probiyotik dondurmalarda depolama süresince <i>L. acidophilus</i> sayısının azalma oranı (%)	
Üretim Yöntemi	
1. Yöntem	2.93±1.55b
2. Yöntem	4.99±2.28a
Adaptasyon Uygulaması	
Adapte Olmayan	5.68±1.91a
45°C-15dk Adaptasyon	3.51±2.30b
4°C-18 saat Adaptasyon	2.68±0.90c
Depolama Süresi	
1. Gün	3.22±1.76c
30. Gün	3.80±2.19bc
60. Gün	4.13±2.16ab
90. Gün	4.69±2.39a

Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

Farklı koşullarda adapte edilen ve adapte edilmeyen *L. acidophilus*'un kullanıldığı probiyotik dondurma örneklerinin üretim yönteminden bağımsız olarak depolama süresince *L. acidophilus* sayısındaki azalma oranında meydana gelen değişimin daha iyi incelenmesi amacıyla Şekil 4.3 düzenlenmiştir.



Şekil 4.3. Depolama süresince probiyotik dondurma örneklerindeki *L. acidophilus*'un sayısındaki azalma oranının (%) dondurma miksine göre değişimi

4.4. Duyusal analiz sonuçları

Depolamanın 1., 30., 60. ve 90. günlerinde yapılan duyusal analizler sonucunda probiyotik dondurmalara ait renk ve görünüş, yapı ve kıvam ile tat ve koku puanları değerlendirilmiştir.

4.4.1. Renk ve görünüş

Probiyotik dondurmalarla ait renk ve görünüş puanları ve puanların örneklerin 90 günlük depolanması sırasındaki değişimi Çizelge 4.32’de verilmiştir. Çizelgede 90 günlük depolama süresince dört farklı zamanda yapılan duyusal analizlerde probiyotik dondurma örneklerinin renk ve görünüş bakımından 5 tam puan üzerinden 4.4 ile 4.9 arasında değişen puanlarla değerlendirildiği görülmektedir. En düşük puanı 1. yöntemle göre üretilen adapte edilmeyen *L. acidophilus*’un kullanıldığı örnek ile 45°C’de 15 dakika adapte edilen *L. acidophilus*’un kullanıldığı örnekleri depolamanın 1. gününde alırken, en yüksek puanı ise 2. yöntemle göre üretilen ve 4°C’de 18 saat adapte edilen *L. acidophilus*’un kullanıldığı örnek depolamanın 1 ve 60. günlerinde almıştır.

Çizelge 4.32. Probiyotik dondurmalarla ait renk ve görünüş puanları (Tam puan=5)

Örnek*	Renk ve görünüş			
	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün
A	4.4±0.5	4.7±0.6	4.7±0.6	4.5±0.7
B	4.4±0.5	4.8±0.6	4.7±0.9	4.6±0.9
C	4.5±0.7	4.8±0.6	4.7±0.6	4.5±0.7
D	4.8±0.4	4.6±0.5	4.7±0.6	4.5±0.7
E	4.8±0.4	4.6±0.7	4.7±0.4	4.6±0.4
F	4.9±0.3	4.7±0.5	4.9±0.3	4.8±0.4

*A:1. yöntemle göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, B:1. yöntemle göre üretilen ve 45°C’de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, C:1. yöntemle göre üretilen ve 4°C’de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, D:2. yöntemle göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, E:2. yöntemle göre üretilen ve 45°C’de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, F:2. yöntemle göre üretilen ve 4°C’de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma.

Üretim yöntemi, adaptasyon uygulaması ve depolama süresinin probiyotik dondurma örneklerinin renk ve görünüş puanları üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.33’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde varyasyon kaynaklarının renk ve görünüş üzerine önemli bir etkisinin olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir.

Çizelge 4.33. Probiyotik dondurmaların renk ve görünüş puanlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Renk ve görünüş		
	S.D.	K.O.	F
Üretim Yöntemi (ÜY)	1	0.30104167	0.74
AdaptasyonUygulaması (AU)	2	0.32187500	0.79
Depolama Süresi (DS)	3	0.46770833	1.15
ÜYxDS	2	0.25104167	0.62
ÜYxDS	3	0.23437500	0.58
AUxDS	6	0.02604167	0.06
ÜYxAUxDS	6	0.02187500	0.05
Hata	216	0.406366	

Üretim yöntemi, adaptasyon uygulaması ve depolama süresinin dondurmaların renk ve görünüş puanlarının ortalamaları üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.34'de verilmektedir. Probiyotik dondurma üretiminde *L. acidophilus*'a uygulanan adaptasyon koşulları ile kullanılan farklı üretim yöntemlerinin dondurma örneklerinin renk ve görünüş puanları üzerine önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. İstatistiksel olarak depolamanın 1., 30., 60. ve 90. günlerinde dondurmaların renk ve görünüş puanları arasında farklılık olmadığı ($P>0.05$) bulunmuştur (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.34. Probiyotik dondurmaların renk ve görünüş puanlarına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	Renk ve görünüş puanları
Üretim Yöntemi	
1.Yöntem	4.60±0.70a
2. Yöntem	4.67±0.52a
Adaptasyon Uygulaması	
Adapte Olmayan	4.58±0.60a
45°C-15dk Adaptasyon	4.62±0.77a
4°C-18 saat Adaptasyon	4.70±0.62a
Depolama Süresi	
1. Gün	4.53 ±0.55a
30.Gün	4.68±0.58a
60.Gün	4.73±0.62a
90.Gün	4.58±0.66a

4.4.2. Yapı ve kıvam

Probiyotik dondurmalara ait yapı ve kıvam puanları ile bu puanların depolama sırasındaki değişimi Çizelge 4.35'de verilmiştir. Çalışmada 90 günlük depolama süresince dört farklı zamanda yapılan duyu analizlerde probiyotik dondurma örneklerinin yapı ve kıvam bakımından 5 tam puan üzerinden 3.8 ile 4.7 arasında değişen puanlarla değerlendirildiği görülmüştür. En düşük puanı 1. yöntemle üretilen ve adaptasyonu sağlanan *L. acidophilus* içeren dondurma örnekleri depolamanın 90. gününde alırken, en yüksek puanı ise 2. yöntemle üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanan *L. acidophilus* içeren dondurma örneği depolamanın 1. gününde almıştır.

Çizelge 4.35. Probiyotik dondurmalarla ait yapı ve kıvam puanları (Tam puan=5)

Örnek*	Yapı ve kıvam			
	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün
A	4.1±0.8	4.4±0.5	4.4±0.6	4.1±0.7
B	4.2±0.7	4.1±0.8	4.0±0.9	3.8±0.9
C	4.2±0.7	4.4±0.8	4.1±0.6	3.8±0.7
D	4.4±0.5	4.1±0.8	4.2±0.7	4.0±0.7
E	4.2±1.0	4.2±0.7	4.2±0.6	3.9±0.5
F	4.7±0.6	4.6±0.7	4.6±0.4	4.4±0.4

*A:1. yöntemle göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, B:1. yöntemle göre üretilen ve 45°C'de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, C:1. yöntemle göre üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, D:2. yöntemle göre üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, E:2. yöntemle göre üretilen ve 45°C'de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, F:2. yöntemle göre üretilen ve 4°C'de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma.

Depolama süresince probiyotik dondurma örneklerinin yapı ve kıvam puanlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.36'da verilmiştir. Çizelge incelendiğinde üretim yöntemi, adaptasyon uygulaması ve depolama süresinin yapı ve kıvam üzerine önemli bir etkisinin olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir.

Çizelge 4.36. Probiyotik dondurmaların yapı ve kıvam puanlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Yapı ve kıvam		
	S.D.	K.O.	F
Üretim Yöntemi (ÜY)	1	1.35000000	2.28
Adaptasyon Uygulaması (AU)	2	1.45104167	2.45
Depolama Süresi (DS)	3	1.25694444	2.13
ÜYxDS	2	1.41562500	2.39
ÜYxDS	3	0.21388889	0.36
AUxDS	6	0.03298611	0.06
ÜYxAUxDS	6	0.18368056	0.31
Hata	216	0.591204	

Depolama süresi ve ürün çeşidinin dondurmaların yapı ve kıvam puanlarının ortalamaları üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.37'de verilmektedir. Probiyotik dondurma örneklerinin panelistlerden almış olduğu yapı puanlarına üretim yönteminin etkisinin olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Adaptasyon uygulamaları içinde 4°C'de 18 saat adapte edilen *L. acidophilus*'un kullanıldığı dondurma örneklerine panelistlerce verilen yapı ve kıvam puanlarının 45°C'de 15 dakika adapte edilen *L. acidophilus*'un kullanıldığı dondurma örneklerine göre yüksek olduğu saptanmıştır. İstatistiksel olarak dondurma örneklerine ait en yüksek yapı ve kıvam puanı 1. günde elde edilirken, en düşük yapı ve kıvam puanı 90. günde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.37. Probiyotik dondurmaların yapı ve kıvam puanlarına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Yapı ve kıvam puanları	
Üretim Yöntemi	
1.Yöntem	4.13±0.78a
2. Yöntem	4.28±0.73a
Adaptasyon Uygulaması	
Adapte Olmayan	4.19±0.72ab
45°C-15dk Adaptasyon	4.08±0.81b
4°C-18 saat Adaptasyon	4.34±0.82a
Depolama Süresi	
1.Gün	4.30±0.82a
30.Gün	4.29±0.75a
60.Gün	4.23±0.75ab
90.Gün	3.99±0.69b

Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistik olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

4.4.3. Tat ve koku

Probiyotik dondurmalara ait tat ve koku puanları ile bu puanların depolama sırasındaki değişimi Çizelge 4.38’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, 90 günlük depolama süresince dört farklı zamanda yapılan duyu analizlerde probiyotik dondurma örneklerinin tat ve koku bakımından 5 tam puan üzerinden 2.5 ile 4.7 arasında değişen puanlarla değerlendirildiği görülmektedir. En düşük puanı birinci yöntemle üretilen ve 45°C’de 15 dakika adapte edilen *L. acidophilus*’un kullanıldığı örnek depolamanın 90. gününde alırken, en yüksek puanı ise ikinci yöntemle üretilen ve adapte edilmeyen *L. acidophilus* ile 4°C’de 18 saat adapte edilen *L. acidophilus*’un kullanıldığı dondurma örnekleri sırasıyla depolamanın 1. ve 30. gününde almıştır.

Çizelge 4.38. Probiyotik dondurmalara ait tat ve koku puanları (Tam puan=5)

Örnek*	Tat ve koku			
	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün
A	4.1±0.7	4.1±0.7	3.6±1.2	3.5±1.1
B	4.0±1.0	3.9±0.8	2.8±1.3	2.5±1.0
C	3.2±1.0	3.8±1.1	3.0±1.4	2.6±1.1
D	4.7±0.5	4.4±0.7	4.3±0.6	4.1±0.5
E	4.5±0.5	4.5±0.5	4.3±0.7	4.2±0.7
F	4.4±0.7	4.7±0.5	4.6±0.7	4.4±0.7

*A:1. yöntemle üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, B:1. yöntemle üretilen ve 45°C’de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, C:1. yöntemle üretilen ve 4°C’de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, D:2. yöntemle üretilen ve adapte olmamış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, E:2. yöntemle üretilen ve 45°C’de 15 dakika adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma, F:2. yöntemle üretilen ve 4°C’de 18 saat adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* DSM 20079 içeren probiyotik dondurma.

Üretim yöntemi, adaptasyon uygulaması ve depolama süresinin probiyotik dondurma örneklerinin tat ve koku puanları üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla

yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.39’da verilmiştir. Çizelge incelendiğinde üretim yöntemi ve depolama süresinin probiyotik dondurmaların tat ve koku puanları üzerine etkisinin $P<0.001$ düzeyinde olduğu görülmektedir, üretim yöntemi x depolama süresi etkisinin $P<0.05$ düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.39. Probiyotik dondurmaların tat ve koku puanlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Tat ve koku		
	S.D.	K.O.	F
Üretim Yöntemi (ÜY)	1	59.00416667	70.77***
Adaptasyon Uygulaması (AU)	2	1.75104167	2.10
Depolama Süresi (DS)	3	6.35833333	7.63***
ÜYxDS	2	5.5824125	4.55*
ÜYxDS	3	3.79479167	2.53
AUxDS	6	2.10694444	0.75
ÜYxAUxDS	6	0.62604167	0.50
Hata	216	0.833796	

* $P<0.05$ düzeyinde önemli, *** $P<0.001$ düzeyinde önemli

Üretim yöntemi, adaptasyon uygulaması ve depolama süresinin dondurmaların tat ve koku puanlarının ortalamaları üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.40’da verilmektedir. Çizelgeden de görüldüğü gibi 2. yonteme göre üretilen dondurmaların tat ve koku puanının 1. yonteme göre üretilen dondurmalarından yüksek olduğu ($P<0.05$) bulunmuştur. Adaptasyonu sağlanan ve sağlanmayan *L. acidophilus*’un kullanıldığı dondurma örneklerinin aldığı tat ve koku puanları arasındaki farklılığın önemli ($P>0.05$) olmadığı belirlenmiştir. İstatistiksel olarak depolamanın 1. ve 30. günleri arasında dondurmaların tat ve koku arasındaki farklılık önemli görülmezken ($P>0.05$), 30. günden sonra dondurma örneklerine ait tat ve koku puanlarının azaldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.40. Probiyotik dondurmaların tat ve koku puanlarına ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Tat ve koku puanları	
Üretim Yöntemi	
1.Yöntem	3.42±1.21b
2. Yöntem	4.41±0.63a
Adaptasyon Uygulaması	
Adapte Olmayan	4.09±0.96a
45 C-15dk Adaptasyon	3.83±1.23a
4 C-18 saat Adaptasyon	3.83±1.30a
Depolama Süresi	
1.Gün	4.15±0.89a
30.Gün	4.23±0.81a
60.Gün	3.75±1.25b
90.Gün	3.54±1.16b

Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

5. SONUÇ

Bu çalışmada farklı gelişim evrelerinde (çoğalma ve durma evresi) ısı stresi karşı adaptasyonu sağlanmış probiyotik bakteri (*Lactobacillus acidophilus*) ve farklı üretim yöntemleri kullanılarak probiyotik dondurma üretilmiştir. Probiyotik dondurmalar -20°C’de 90 gün süreyle depolanmış ve depolamanın 1. gününde probiyotik dondurmanın fizikokimyasal özellikleri; depolamanın 1., 30., 60. ve 90. günlerinde ise mikrobiyolojik ve duyu özellikleri belirlemiştir.

Araştırmanın ilk aşamasında farklı gelişim evrelerindeki (çoğalma ve durma) *L. acidophilus*, farklı sıcaklık-süre kombinasyonlarında adapte edildikten sonra -20°C’de 30 gün tutulmuştur. Yapılan sayım sonuçlarına göre -20°C’de 30 gün depolama sırasında *L. acidophilus*’un canlı kalma düzeyinin başlangıçtaki *L. acidophilus* sayısına göre en yüksek olduğu ısı adaptasyon koşulları tespit edilmiştir. Söz konusu adaptasyon koşullarının, optimum gelişme sıcaklığının altı için 4°C’de 18 saat süresince tutularak ısı adaptasyonu sağlanan çoğalma evresindeki *L. acidophilus*’ta, optimum gelişme sıcaklığının üstü için 45°C’de 15 dakika süresince tutularak ısı adaptasyonu sağlanan çoğalma evresindeki *L. acidophilus*’ta olduğu belirlenmiştir.

Süt içerisinde, belirlenen koşullarda ısı adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* kullanılarak “Probiyotik Dondurma” üretilmiştir. Probiyotik dondurma üretimi; miksin ısı adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* içeren süt ile fermente edildikten sonra dondurmaya işlenmesi (1. yöntem) ve ısı adaptasyonu sağlanmış *L. acidophilus* içeren süt eklenen miksin fermente edilmeden dondurmaya işlenmesi (2. yöntem) olmak üzere 2 farklı yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın kontrol grubunu ise, ısı stresi karşı adapte edilmeyen *L. acidophilus* kullanılarak her iki yönteme göre üretilen dondurma örnekleri oluşturmuştur.

Üretim yönteminin dondurma mikslerinin pH, titrasyon asitliği ve viskozite değerleri üzerine etkisinin önemli ($P<0.001$) olduğu tespit edilirken, adaptasyon uygulamalarının sadece dondurma mikslerinin viskozite değeri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Adaptasyonu sağlanmayan *L. acidophilus*’un kullanıldığı dondurma mikslerinin ortalama viskozite değeri, adapte edilerek kullanılan *L. acidophilus*’un kullanıldığı dondurma mikslerinden yüksek bulunmuştur.

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde birinci ve ikinci yönteme göre üretilen probiyotik dondurma örneklerinin fizikokimyasal özelliklerinin farklı olduğu belirlenmiştir. Adapte edilmeyen *L. acidophilus*’un kullanıldığı dondurma örnekleri ile 4°C’de 18 saat ve 45°C’de 15 dakika süresince ısı adaptasyonu sağlanan çoğalma evresindeki *L. acidophilus*’un kullanıldığı dondurma örneklerinin fizikokimyasal özellikleri arasında istatistiksel açıdan farklılık tespit edilmemiştir.

Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda, dondurma mikslerinin dondurmaya işlenmesi sırasında ve dondurma örneklerinin depolanması süresince örneklerdeki *L. acidophilus* sayısının azaldığı belirlenmiştir. Ancak tüm probiyotik dondurma örneklerinde 90 günlük depolama sonunda yeterli sayıda probiyotik bakteri ($\geq 10^7$ kob/g) bulunduğu saptanmıştır. Adaptasyon uygulamaları ile üretim yöntemlerinin dondurmalarındaki *L. acidophilus* sayısındaki azalma oranı üzerine önemli düzeyde etkili

($P < 0.001$) olduđu ve en dűşűk azalma oranının 4°C’de 18 saat sűresince ısıı adaptasyonu sađlanan çođalma evresindeki *L. acidophilus*’un kullanıldıđı ve 1. yűnteme gűre űretilen dondurma űrneklerinde olduđu tespit edilmiřtir.

Yapılan duyuşal analizler sonucunda genel olarak ikinci yűnteme gűre űretilen dondurma űrneklerinin birinci yűnteme gűre űretilenlerden daha yűksek puan aldıđı belirlenmiřtir. Dondurma űretiminde ısıı adaptasyonu sađlanan ve sađlanmayan *L. acidophilus*’un kullanımının űrneklere verilen duyuşal puanlarını etkilemediđi ve dondurma űretiminde adapte edilen probiyotik bakterinin kullanılabilceđi saptanmıřtır. Probiyotik dondurmaların tat ve koku puanları űzerine depolama sűresinin etkisinin űnemli ($P < 0.001$) olduđu bulunmuřtur. Probiyotik dondurma űrneklerinin -20°C’de 90 gűnlűk depolanması sonunda yapı ve kıvam puanları ile tat ve koku puanlarının azaldıđı, depolama sűresinin űrneklerin renk ve gűrűnűş puanlarını deđiřtirmedeđi belirlenmiřtir.

Çalışmanın sonuçları dikkate alındığında, ısıı adaptasyonu sağlanan farklı probiyotik bakteri tűrlerinin ve suşlarının dondurma űretiminde kullanımı ile adaptasyon mekanizmalarını ortaya koyabilecek nitelikteki araştırmalara gereksinim bulunduğu değerlendirilmiştir.

6. KAYNAKLAR

ABD EL RAHMAN, A.M., MADKOR, S.A., IBRAHİM, F.S. and KILARA, A. 1997. Physical characteristics of frozen desserts made with cream, anhydrous milk fat fractions. *Journal of Dairy Science*, 80: 1926-1935.

ABGHARI A., ZEINODDİN M.S. and ZAD S.S. 2011. Nonfermented ice cream as a carrier for *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*. *International Journal of Food Science and Technology*, 46: 84-92.

ACUNZO, J., KATSOGIANNOU, M. and ROCCHI, P. 2012. Small heat shock proteins HSP27 (HspB1), α B-crystallin (HspB5) and HSP22 (HspB8) as regulators of cell death. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 44: 1622-1631.

AKALIN, A.S. ve ERİŞİR, D. 2008. Effects of inulin and oligofructose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. *Journal of Food Science*, 73(4): 184-188.

AKIN, M.S. 2005. Effects of inulin and different sugar levels on viability of probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics of probiotic fermented ice-cream. *Milchwissenschaft*, 60 (3): 297-300.

AKMAN, E. 2009. Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 48ss, İstanbul.

AKYÜZ, N. ve COŞKUN, H. 1995. Meyveli yoğurt üretimi. III. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Bildiriler Kitabı, MPM Yayınları Yayın No:548, 285-293, Ankara.

ALAMPRESE, C., FOSCHINO, R., ROSSI, M., POMPEI, C. and CORTI S. 2005. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG addition in ice cream. *International Journal of Dairy Technology*, 58(4) 200-207.

ALAMPRESE, C., FOSCHINO, R., ROSSI, M., POMPEI, C. and SAVANI, L. 2002. Survival of *Lactobacillus johnsonii* La1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations. *International Dairy Journal*, 12: 201-208.

AL-MAHİN, A., SUGİMOTO, S., HİGASHI, C., MATSUMOTO, S. and SONOMOTO, K. 2010. Improvement of multiple-stress tolerance and lactic acid production in *Lactococcus lactis* NZ9000 under conditions of thermal stress by heterologous expression of *Escherichia coli* DnaK. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(13): 4277-4285.

ANONİM. 1986. TS 4851 Dondurma-Toplam Katı Madde Miktarı Tayini-Referans Metot Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, 5 ss, Ankara.

ANONİM. 1992. TS 4265 Dondurma-Süt Esaslı Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, 17 ss, Ankara.

ANONİM. 2004. Türk Gıda Kodeksi-Dondurma Tebliği. Tebliğ No: 2004/45. T.C. Resmi Gazete 13.01.2005 tarih ve 25699 sayı. Başbakanlık Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel Müdürlüğü, Ankara.

ANONİM. 2006. Gıda Maddelerinin Genel Etiketleme ve Beslenme Yönünden Etiketleme Kuralları Tebliği. Tebliğ No: 2006/34. T.C. Resmi Gazete 07.07.2006 tarih 26221 sayı. Başbakanlık Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel Müdürlüğü, Ankara.

ANONİM. 2011. Türk Gıda Kodeksi-Etiketleme Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete 29.12.2011 tarih ve 28157 sayı. Başbakanlık Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel Müdürlüğü, Ankara.

ANONİM. 2012. Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete 11.02.2012 tarih 28201 sayı. Başbakanlık Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel Müdürlüğü, Ankara.

ANONİM.2013.http://hbogm.meb.gov.tr/modulerprogramlar/kursprogramlari/gida/moduller/proteinlerin_ozellikleri.pdf (Erişim tarihi: 03.02.2013).

ANONYMOUS. 1997. Dairy Starter Cultures of Lactic Acid Bacteria (LAB) Standart of Identity. International IDF Standart 149A, 8 pp, Belgium.

ANONYMOUS. 2001. Milk and Milk Products–General Guidance for the Preparation of Test Samples, Initial Suspensions and Decimal Dilutions for Microbiological Examination. International IDF Standard 122, 12 pp, Belgium.

BUKAU, B. and HORWICH, A.L. 1998. The Hsp70 and Hsp60 review chaperone machines. *Cell*, 92: 351-366.

BEALES, N. 2003. Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3: 1-20.

BODYFELT, F.W., TOBIAS, J. and TROUT, G.M. 1988. The Sensory Evaluation of Dairy Products. Van Nostrand Reinhold, 598 pp, New York, USA.

CAPOZZI, V., WEIDMANN, S., FIOCCO, D., RIEU, A., HOLS, P., GUZZO, J. and SPANO, G. 2011a. Inactivation of a small heat shock protein affects cell morphology and membrane fluidity in *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Research in Microbiology*, 162: 419-425.

CAPOZZI, V., ARENA, M.P., CRISSETTI E., SPANO G. and FIOCCO D. 2011b. The *hsp 16* gene of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* is differently regulated by salt, high temperature and acidic stresses, as revealed by reverse transcription quantitative PCR (qRT-PCR) analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 12: 5390-5405.

CORCORAN, B.M., STANTON, C., FITZGERALD, G.F. and ROSS, R.P. 2008. Life under stress: The probiotic stress response and how it may be manipulated. *Current Pharmaceutical Design*, 14: 1382-1399.

CRUZ, A.G., ANTUNES, A.E.C., SOUSA, A.L.O.P., FARIA, J.A.F. and SAAD, S.M.I. 2009. Ice-cream as a probiotic food carrier. *Food Research International*, 42: 1233-1239.

ÇAKIR, İ. 2003. Laktobasillus ve Bifidobakterlerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 93 ss, Ankara.

ÇALLI, H. 2010. Dondurma Sektörü. *Türk Standartları Enstitüsü Dergisi*, 49 (579): 12-17.

ÇOMAK, E.M. 2010. Farklı İnkübasyon Sıcaklıkları ve Sonlandırma pH'larının Acidophiluslu Yoğurdun Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik, Duyusal ve Probiyotik Özellikleri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 124 ss, Antalya.

DE ANGELIS, M. and GOBBETTI, M. 2004. Environmental stress responses in *Lactobacillus*: A review. *Proteomics*, 4: 106-122.

DE ANGELIS, M. and GOBBETTI, M. 2011. Stress Responses of Lactobacilli. Tsakalidou, E. and Papadimitriou, K. (Editors). *Food Microbiology and Food Safety*, Springer, pp. 219-249, US.

DEMİRCİ, M. ve ŞİMŞEK, O. 1997. Süt İşleme Teknolojisi. Hasad Yayıncılık, İstanbul, 364 ss.

DERVİŞOĞLU, M. 1995. Bileşimce Zenginleştirilmiş İnek Sütlerine Kola Konsantresi ve Aroma Maddesi Katılarak İşlenen Dondurmaların Bazı Nitelikleri Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 94 ss, Samsun.

DERZELLE, S., HALLET, B., FRANCIS, K.P., FERAIN, T., DELCOUR, J. and HOLS, P. 2000. Changes in cspL, cspP, and cspC mRNA abundance as a function of cold shock and growth phase in *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Bacteriology*, 182(18): 5105.

DESMOND, C., FITZGERALD, G.F., STANTON, C. and ROSS, R.P. 2004. Improved stress tolerance of GroESL-overproducing *Lactococcus lactis* and probiotic *Lactobacillus paracasei* NFBC 338. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(10): 5929-5936.

DİKİCİ, A. 2009. Çevresel stres faktörlerine karşı bakteriyel adaptasyonlar ve mekanizmaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(3): 59-68.

DRIESSEN, F.M. and BOER, R. 1989. Fermented milks with selected intestinal bacteria; A healthy trend in new products. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 43: 367-382.

DONKOR, O.N., HENRIKSSON, A., VASILYEVIC, T. and SHAH, N.P. 2006. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 16: 1181-1189.

DÜZGÜNEŞ, O., KESİCİ, T., KAVUNCU, O. ve GÜRBÜZ, F. 1987. Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistik II). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 1021, 381 ss, Ankara.

EL-NAGAR, G., CLOWES, G., TUDORICA, C. M., KURI, V. and BRENNAN, C.S. 2002. Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. *International Journal of Dairy Technology*, 55: 89-93.

ERGİN, F., ÇOMAK GÖÇER, E.M., AŞCI, A.A. ve KÜÇÜKÇETİN A. 2012. Probiyotik bakterilerin düşük sıcaklık stresine adaptasyonu. *Akademik Gıda*, 10(4): 65-69.

ERİŞİR, D. 2005. Dondurma Üretiminde Probiyotik Bakteri ve Fruktooligosakkarit Kullanımının Ürün Özelliklerine Etkisi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 74 ss, İzmir.

ERKMEN, O. 2010. Gıda Mikrobiyolojisi. Efil Yayınevi. Ders kitabı, 552 ss, Ankara.

FALKE, S., FISHER, M.T. and GOGOL, E.P. 2001. Structural changes in GroEL effected by binding a denatured protein substrate. *Journal of Molecular Biology*, 308: 569-577

FERRAZ J.L., CRUZ, A.G., CADENA, R.S., FREITAS, M.Q., PINTO, U.M., CARVALHO, C.C., FARIA, J A.F. and BOLINI, H.M.A. 2012. Sensory acceptance and survival of probiotic bacteria in ice cream produced with different overrun levels. *Journal of Food Science*, 71(1): 524-528.

ÇAKIR, İ. 2006. Mikroenkapsülasyon tekniğinin gıda üretiminde kullanımı. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Bolu, 693-696.

GIRGIS, H.S., SMITH, J., LUCHANSKY, J.B. and KLAENHAMMER, T.R. 2003. Stress Adaptations of Lactic Acid Bacteria. In: Yousef, A. E. and Juneja, V. K. (Editors), *Microbial stress adaptation and food safety*, CRC Press, pp. 159-211, Boca Raton, Florida.

GOUESBET, G., JAN, G. and BOYAVAL, P. 2002. Two-dimensional electrophoresis study of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* thermotolerance. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(3): 1055-1063.

GÖNÇ, S. ve AKALIN, A.S. 1995. Yoğurttta canlı olarak bulunan *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus bifidus*'un organizma ve sağlık üzerine etkisi. *Gıda*, 20(2): 75-80.

GUZZO, J. 2012. Biotechnical applications of small heat shock proteins from bacteria. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 44: 1698-1705.

GÜLMEZ, M. ve GÜVEN, A. 2002. Probiyotik, prebiyotik ve simbiyotikler. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8(1): 83-89.

GÜRSEL, A. ve KARACABEY, A. 1998. Dondurma Teknolojisine İlişkin Hesaplamalar, Reçeteler ve Kalite Kontrol Testleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 1498, 172 ss, Ankara.

GÜRSOY, O., KINIK, Ö. ve GÖNEN, İ. 2005. Probiyotikler ve gastrointestinal sağlığa etkileri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 35: 136-148.

GÜRSOY, O. ve KINIK, Ö. 2006. Probiyotik bakterilerin klinik uygulamalarında yeni gelişmeler-I. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 43(1): 181-188.

HAN, M.J., YUN, H. and LEE, S.Y. 2008. Microbial small heat shock proteins and their use in biotechnology. *Biotechnology Advances*, 26: 591-609.

HAYNES, I.N. and PLAYNE, M.J. 2002. Survival of probiotic cultures in low-fat ice-cream. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 57, 10-14.

HEKMAT, S. and Mc MAHON, D.J. 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *Journal of Dairy Science*, 75: 1415-1422.

HOMAYOUNI, A., AZIZI A., EHSANI M.R., YARMAND M.S. and RAZAVI S.H. 2008. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111: 50-55.

HU, B., MAYER, M.P. and TOMITA, M. 2013. Hsp70-mediated protein refolding in e-cell. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6503/> (Erişim tarihi: 03.02.2013).

IŞIK, Ü. 2005. Vanilyalı Yoğurt Dondurmaya İnülin ve İzomalt İlavesinin Reolojik ve Duyusal Özelliklere Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 94 ss, İstanbul.

KARAMAN, S. 2009. Çay veya Bazı Bitki Çayları ile Aromatize Edilmiş Dondurma Üretim Olanaklarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 99 ss, Kayseri.

KILIÇ, S. 2001. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 542, 451 ss, İzmir.

KIM, W.S. and DUNN, N.W. 1997. Identification of a cold shock gene in lactic acid bacteria and the effect of cold shock on cryotolerance. *Current Microbiology*, 35: 59-63.

KIM, W.S., REN, J. and DUNN, N.W. 1999. Differentiation of *Lactococcus lactis* subspecies *lactis* and subspecies *cremoris* strains by their adaptive response to stresses. *FEMS Microbiology Letters*, 171: 57-65.

KIM, W.S., PERL, L., PARK, J.H., TANDIANUS, J.E. and DUNN, N.W. 2001. Assessment of stress response of the probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *Current Microbiology*, 43: 346-350.

KIRDAR, S. ve GÜN, İ. 2002. Burdur'da tüketilen süzme yoğurtlarının fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Gıda*, 27(1): 59-64.

KOYUN, A. 2009. Endüstriyel Dondurma Üretiminde Yağsız Süttozu Yerine, Peyniraltı Suyu Protein Konsantresi Kullanımının Dondurmaya Uygunluğunun Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 52 ss, Tekirdağ.

KRESS, W., MAGLICA, Z. and WEBER-BAN, E. 2009. Clp chaperone-proteases: Structure and function. *Research in Microbiology*, 160: 618-628.

KURT, A., ÇAKMAKÇI, S. ve ÇAĞLAR, A. 1993. Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi. Atatürk Üniversitesi Yayınları. No: 252, 238 ss, Erzurum.

KÜÇÜKÇETİN, A., MİLCİ S. ve DEMİR M. 2009. Farklı Yöntemler Kullanılarak Üretilen Probiyotik Dondurmaların Bazı Probiyotik Özellikleri ve Kalite Karakteristiklerinin Belirlenmesi. Tübitak Projesi Sonuç Raporu, Proje No: 107 O 438, 148 ss, Antalya.

LAHTINEN, S.J., AHOKOSKI, H., REINIKAINEN, J.P., GUEIMONDE, M., NURMI, J., OUWEHAND, A.C. and SALMINEN, S.J. 2008. Degradation of 16S rRNA and attributes of viability of viable but nonculturable probiotic bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 46: 693-698.

LIAO, Q., HANG, X., LIU, X., PAN, J., ZHANG, H. and YANG, H. 2010. The influence of pH on heat stress response by probiotic *Lactobacillus plantarum* LP-Only. *Annals of Microbiology*, 60: 341-348.

LORCA G.L. and DE VALDEZ G.F. 1998. Temperature adaptation and cryotolerance in *Lactobacillus acidophilus*. *Biotechnology Letters*, 20(9): 847-849.

MAYER, M.P. and BUKAU, B. 2005. Hsp70 chaperones: Cellular functions and molecular mechanism. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62: 670-684.

MCDUGALD, D., SCOTT, A., RICE, A., WEICHART, D. and KJELLEBERG, S. 1998. Nonculturability: adaptation or debilitation? *FEMS Microbiology Ecology*, 25: 1-9.

MENRAD, K. 2003. Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56(2-3): 181-188.

METİN, M. 1999. Süt Teknolojisi. Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları. No: 33 1. Bölüm. I. Baskı, 51-68, İzmir.

MORTAZAVIAN, A.M., MOHAMMADI, R. and SOHRABVANDI, S. 2012. Delivery of Probiotic Microorganisms into Gastrointestinal Tract by Food Products. In: T. Brzozowski (Editor), *New Advances in the Basic and Clinical Gastroenterology*, InTech, pp. 121-147, Tehran, Iran.

MURGA, M.L.F., CABRERA, G.M., DE VALDEZ, G.F., DISALVO, E.A. and SELDES, A.M. 2000. Influence of growth temperature on cryotolerance and lipid composition of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 342-348.

MURGA, M.L.F., DE VALDEZ, G.F. and DISALVO, E.A. 2001. Effect of lipid composition on the stability of cellular membranes during freeze-thawing of *Lactobacillus acidophilus* grown at different temperatures. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 388(2): 179-184.

NAKAMOTO, H. and VIGH, L. 2007. The small heat shock proteins and their clients. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64: 294-306.

NOUSIA, F.G., ANDROULAKIS, P.I. and FLETOURIS, D.J. 2011. Survival of *Lactobacillus acidophilus* LMGP-21381 in probiotic ice cream and its influence on sensory acceptability. *International Journal of Dairy Technology*, 64(1): 130-137.

ÖZCAN, T. ve KURDAL, E. 1997. Bursa ili merkezinde satılan meyveli dondurmaların kimyasal ve mikrobiyolojik nitelikleri üzerine araştırma. *Gıda*, 22(3): 217-225.

ÖZER, D. 2001. Acidophilus-Bifidus (AB) Yoğurtların Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Laktuloz ve İnülinin Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 82 ss, Şanlıurfa.

ÖZER, B. 2006. Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi. Sidas Medya, Şanlıurfa, 488ss.

PRASAD, J., MCJARROW, P. and GOPAL, P. 2003. Heat and osmotic stress responses of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (DR20) in relation to viability after drying. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(2): 917-925.

RANADHEERA, C.S., EVANS, S.C., ADAMS, M.C. and BAINES S.K. 2013. Production of probiotic ice cream from goat's milk and effect of packaging materials on product quality. *Small Ruminant Research*, 112: 174-180.

RASIC, J.L. and KURMANN, I.J. 1983. Bifidobacteria and Their Role. Birkhäuser Verlag, 295 pp, Basel.

RICHTER, K., HASLBECK, M. and BUCHNER, J. 2010. The heat shock response: Life on the verge of death. *Molecular Cell*, 40(2): 253-266.

SAARELA, M., RANTALA, M., HALLAMAA, K., NOHYNEK, L., VIRKAJARVI I. and MATTO, J. 2004. Stationary-phase acid and heat treatments for improvement of the viability of probiotic lactobacilli and bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 96: 1205-1214.

SALEM, M.M.E., FATHI, F.A. and AWAD, R.A. 2005. Production of probiotic ice cream. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14/50 (3): 267-271.

SANDERS, M.E. and MARCO, M.L. 2010. Food formats for effective delivery of probiotics. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1: 65-85.

SCHKODA, P., HECHLER, A. and KESSLER, H.G. 1999. Effect of minerals and pH on rheological properties and syneresis of milk-based acid gels. *International Dairy Journal*, 9: 269-273.

SENANAYAKE, S.A., FERNANDO, S., BAMUNUARACHCHI, A. and ARSEKULARATNE, M. 2013. Application of *Lactobacillus acidophilus* (LA 5) strain in fruit-based ice cream. *Food Science & Nutrition*, 1(6): 428-431.

SERRAZANETTI, D.I., GUERZONI, M.E., CORSETTI, A. and VOGEL, R. 2009. Metabolic impact and potential exploitation of the stress reactions in lactobacilli. *Food Microbiology*, 26: 700-711.

SHIVAJI, S. and PRAKASH, J.S.S. 2010. How do bacteria sense and respond to low temperature? *Archives Microbiology*, 192: 85-95.

SHORTT, C. 1999. The probiotic centry: Historical and current perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 411-417.

SMEDS, A., VARMANEN, P. and PALVA, A. 1998. Molecular characterization of a stress-inducible gene from *Lactobacillus helveticus*. *Journal of Bacteriology*, 180(23): 6148-6153.

SMITH, W.M., DYKES, G.A., SOOMRO, A.H. and TURNER, M.S. 2013. Molecular mechanisms of stress resistance in *Lactococcus lactis*. <http://www.formatex.info/microbiology2/1106-1118.pdf> (Erişim tarihi: 03.02.2013).

STREIT, F., CORRIEU, G. and B'ÉAL, C. 2007. Acidification improves cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CFL1. *Journal of Biotechnology*, 128: 659-667.

SUGIMOTO, S., AL-MAHIN, A. and SONOMOTO, K. 2008. Molecular chaperones in lactic acid bacteria: Physiological consequences and biochemical properties. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 106(4): 324-336.

SUOKKO, A., SAVIJOKI, K., MALINEN, E., PALVA, A. and VARMANEN, P. 2005. Characterization of a mobile *clpL* gene from *Lactobacillus rhamnosus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(4): 2061-2069.

SUOKKO, A. 2008. The Stress Responses of Probiotic Lactobacilli and a Bifidobacterium with Special Emphasis on Clp Family Proteins. Academic Dissertation, Faculty of Veterinary Medicine of the University of Helsinki, Finland, 55p.

ŞENER, A. 2009. Serbest ve Mikroenkapsüle Probiyotik Bakterilerin Ticari Dondurma Üretiminde Kullanılabilirliği Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 156 ss, Ankara.

THIERINGER, H.A., JONES, P.G. and INOUE, M. 1998. Cold shock and adaptation. *BioEssays*, 20: 49-57.

TOK, E. ve ASLIM, B. 2007. Probiyotik olarak kullanılan bazı laktik asit bakterilerinin kolesterol asimilasyonu ve safra tuzları dekonjugasyonundaki rolleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyet Dergisi*, 37(1): 62-68.

TOKUÇ, K. 2007. Bebek Orijinli *Lactobacillus* spp. Kullanarak Probiyotik Dondurma Üretimi ve Depolama Süresince Probiyotik Bakteri Canlılığı ile Diğer Bazı Özelliklerin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 87ss, Tekirdağ.

TONGUÇ, I. E. 2006. Probiyotik Ayran Üretimi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 133 ss, İzmir.

TREVORS, J.T., BEJ, A.K., MOJIB, N., VAN ELSAS, J.D. and VAN OVERBEEK, L. 2012. Bacterial gene expression at low temperatures. *Extremophiles*, 16: 167-176.

TURGUT, T. 2006. Bazı Probiyotik Bakterilerin Dondurma Üretiminde Kullanım İmkânları. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye, 168 s.

TURGUT, T. ve ÇAKMAKCI, S. 2009. Investigation of the possible use of probiotics in ice cream manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, 62(3): 444-451.

VAN DE GUCHTE, M., SERROR, P., CHERVAUX, C., SMOKVINA, T., EHRLICH, S. and MAGUIN, E. 2002. Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82: 187-216.

VARDAR, N.B. ve ÖKSÜZ, Ö. 2007. Artisan strawberry ice cream made with supplementation of lactococci or *Lactobacillus acidophilus*. *Italian Journal Food Science*, 4(19): 403-414.

VARMANEN, P. and SAVIJOKI, K., 2011. Responses of lactic acid bacteria to heat stress. *Food Microbiology and Food Safety*, Tsakalidou, E. and Papadimitriou, K. (Editors) Springer, pp. 55-66, US.

VIJAYAGEETHA, V., BEGUM, K. and REDDY, Y.K. 2011. Technology and quality attributes of probiotic ice cream. *Tamilnadu Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 7(6): 299-302.

VOROB'EVA, L.A. 2004. Stressors, stress reactions, and survival of bacteria: A review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 40(3): 217-224.

WALKER, D.C., GIRGIS, H.S. and KLAENHAMMER, T.R. 1999. The *groESL* chaperone operon of *Lactobacillus johnsonii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7): 3033-3041.

WEI-YIN NG, E. 2009. Effect of Starter Cultures on *Lactobacillus acidophilus* Survival and Gene Expression in Yogurt. M. Sc. Thesis, Faculty of California Polytechnic State University, 120 pp, San Luis Obispo.

WEISSMAN, J.S., RYE, H.S., FENTON, W.A., BEECHEM, J.M. and HORWICH, A.L., 1996. Characterization of the active intermediate of a GroEL-GroES-mediated protein folding reaction. *Cell*, 84: 481-490.

WELCH, C. 1987. Nutritional and therapeutic aspects of *Lactobacillus acidophilus* in dairy products. *Cultured Dairy Products Journal*, 22(9): 23-26.

WOUTERS, J.A., JEYNOV, B., ROMBOUTS, F.M., DE VOS, W.M., KUIPERS, O.P. and ABEE, T. 1999 a. Analysis of the role of 7 kDa cold-shock proteins of *Lactococcus lactis* MG1363 in cryoprotection. *Microbiology*, 145: 3185-3194.

WOUTERS, J.A., JEYNOV, B., ROMBOUTS, F.M., DE VOS, W.M., KUIPERS, O.P. and ABEE, T. 1999 b. Cold shock proteins and low-temperature response of *Streptococcus thermophilus* CNRZ302. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (10): 4436-4442.

YAMANAKA, K., FANG, L. and INOUE, M. 1998. The CspA family in *Escherichia coli*: multiple gene duplication for stress adaptation. *Molecular Microbiology*, 27(2): 247-255.

YILMAZ, B. Ç. 2008. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BLL27 Suşunda Farklı Stres Koşullarının Nisin Üretimi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 86 ss, Ankara.

ZAVAGLIA, A.G., DISALVO, E.A. and DE ANTONI, G.L. 2000. Fatty acid composition and freeze-thaw resistance in lactobacilli. *Journal of Dairy Research*, 67: 241-247.

ÖZGEÇMİŞ

Firuze ERGİN 1988 yılında Antalya'da doğdu. İlköğretimi ve lise öğrenimini Antalya'da tamamladı. 2006 yılında girdiği Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden 2010 yılında Gıda Mühendisi olarak mezun oldu. Eylül 2011 Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Halen aynı Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitime devam etmektedir.