Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi
Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University
http://ziraatdergi.gop.edu.tr/

Araştırma Makalesi/*Reseach Article*

JAFAG
ISSN: 1300-2910
E-ISSN: 2147-8848
(2016) 33 (1), 75-83
doi:**10.13002/jafag919**

Geleneksel ve Fonksiyonel Bir Gıda Olan Kefirin Mikrobiyolojik Profili

Şeniz KARABIYIKLI[1]* Seher DAŞTAN[1]

[1]Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tokat
*: e-posta: seniz.karabiyikli@gop.edu.tr

Alındığı tarih (Received): 02.09.2015 Kabul tarihi (Accepted): 09.11.2015
Online Baskı tarihi (Printed Online): 03.04.2016 Yazılı baskı tarihi (Printed): 16.05.2016

Öz: Bu çalışmada endüstriyel olarak üretilen ve piyasaya sunulmuş üç adet kefir, geleneksel yöntemlerle ev koşullarında üretim için kullanılan üç adet kefir danesi ve bu danelerden laboratuvar koşullarında geleneksel yöntemlerle üretilmiş olan üç adet kefir örneğinin mikrobiyal profilleri belirlenmiştir. Kefir ve kefir danesi örneklerinin mikrobiyolojik profillerinin belirlenebilmesi için toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı, toplam psikrofilik aerobik bakteri sayımı, asetik asit bakteri sayımı, laktik asit bakteri sayımı, maya sayımı, küf sayımı, koliform bakteri sayımı, *Escherichia coli* sayımı ve *Staphylococcus aureus* sayımı analizleri yapılmıştır. Analize alınan kefir ve kefir danesi örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı 5,74 ile 8,50 log kob/ml-g, toplam psikrofilik aerobik bakteri sayısı <1,00 ile 7,44 log kob/ml-g, asetik asit bakteri sayısı 5,28 ile 7,55 log kob/ml-g, laktik asit bakteri sayısı 1,24 ile 7,91 log kob/ml-g, maya sayısı <1,00 ile 5,82 log kob/ml-g, küf sayısı <1,00 ile 3,04 log kob ml-g, koliform bakteri sayısı <3 ile >1100 EMS/ml-g, *Escherichia coli* sayısı <3 ile 49,66 EMS/ml-g aralığında olup örneklerin hiçbirinde *Staphylococcus aureus* tespit edilememiştir. Elde edilen sonuçlar ürüne ilişkin mevcut tebliğ ve standartlar ile karşılaştırılmıştır. Geleneksel koşullarda kefir danesi kullanılarak üretilen kefirlerde yaşanabilecek standardizasyon problemi hem ürünün güvenliğini hem de tekstürel ve/veya duyusal özelliklerini etkileyeceğinden ürünün endüstriyel koşullarda üretimi oldukça önemlidir. Bununla birlikte, probiyotik bir ürün olarak tüketilen kefirin özellikle piyasadan temin edilen örneklerine ilişkin elde edilen sonuçlar kefir üretim prosesinin gözden geçirilmesi ve mikrobiyal canlılığın sürdürülebilmesi için gerekli koşulların endüstriye aktarılması gerektiğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Kefir, kefir danesi, geleneksel gıda, fonksiyonel gıda, probiyotik.

Microbiologic Profile of Kefir which is a Traditional and Functional Food

Abstract: In this study, microbiological profiles of three kefir produced industrially and marketed, three kefir grains used for traditional production for home-scale and three kefir produced from these grains in laboratory by traditional methods were determined. Total mesophilic aerobic bacteria count, total psychrophilic aerobic bacteria count, acetic acid bacteria count, lactic acid bacteria count, yeast count, mould count, coliform bacteria count, *Escherichia coli* count and *Staphylococcus aureus* count analyses were performed to determine the microbial profiles of kefir and kefir grain samples. Total mesophilic aerobic bacteria count results of the kefir and kefir grain samples were between 5,74 and 8,50 log CFU/ml-g, total psychrophilic aerobic bacteria counts were between <1,00 and 7,44 log CFU/ml-g, acetic acid bacteria counts were between 5,28 and 7,55 log CFU/ml-g, lactic acid bacteria counts were between 1,24 and 7,91 log CFU/ml-g, yeast counts were between <1,00 and 5,82 log CFU/ml-g, mould counts were between <1,00 and 3,04 log CFU/ml-g, coliform bacteria counts were between <3 and >1100 MPN/ml-g, *Escherichia coli* counts were between <3 and 49,66 MPN/ml-g, and *Staphylococcus aureus* could not be detected in any of the samples. The results were compared with the current rescripts and standards. Industrially production of kefir is quite important because of the standardization problem which could be occur in products traditionally produced with kefir grains and could affect the safety as well as textural and/or sensorial properties of the product. After all, the results of kefir samples -particularly purchased from markets- revealed that the production process of kefir which is consumed as a probiotic food, should be revised and the conditions necessary for microbial viability should be changed for industry.

Keywords: Kefir, kefir grain, traditional food, functional food, probiotic.

1. Giriş

Günümüz tüketicilerinin artan eğitim seviyesi ve farklılaşan yaşam koşullarına bağlı olarak gıda tüketimindeki tercihleri değişmiş ve doğal, geleneksel ve/veya fonksiyonel gıda kavramları gündelik hayatımızda yerini almaya başlamıştır. Fonksiyonel gıda, besleyici özelliğinin yanı sıra insan fizyolojisi ve metabolik fonksiyonları üzerinde ek faydalar sağlayan, böylelikle hastalıklardan korunmada ve daha sağlıklı bir yaşama ulaşmada etkinlik gösteren gıda ya da gıda bileşenleri olarak tanımlanmaktadır (Vural, 2004; Hacıoğlu ve Kurt, 2012). Fonksiyonel gıdalar arasında en çok bilinen ve tercih edilen grup probiyotik gıdalardır. Probiyotikler ise büyük bölümünü laktik asit bakteri ve probiyotik özellik gösteren bazı yararlı maya ve bakterilerin oluşturduğu, uygun doz ve sıklıkta alındığında sindirim sistemi başta olmak üzere sağlığa olumlu etkileri olan canlı mikroorganizmalardır (Sanders, 2003; Magalhães ve ark., 2011). Bu canlı mikroorganizmaların dehidre ve enkapsüle edilmiş farmakolojik ürünleri de piyasada mevcut olmakla birlikte en yaygın tüketim şekli fermente süt ürünleri ile birlikte gerçekleşmektedir. Tüm bu etmenler göz önünde bulundurulduğunda hem geleneksel, hem doğal, hem de probiyotik özellik göstermesi sebebi ile fonksiyonel bir gıda olan kefir tüketimi son yıllarda giderek artmıştır. Antibakteriyel, immünolojik, antitümoral ve hipokolesterolemik etkilere sahip olan kefir tüketiminin faydaları oldukça fazladır (Irigoyen ve ark., 2005). Yapılan çalışmalar kefirin antitümoral aktivitesi, immunostimulan etkisi ile hem antibakteriyel hem de antifungal aktivitesini ispat etmiştir (Sezer, 2003). Yüksek düzeyde besleyici, biyolojik ve diyetetik değere sahip olan kefir, gastrointestinal hastalıklar, metabolik hastalıklar, kanser, hipertansiyon, kalp hastalıkları ve alerjik hastalıklar için alternatif gıda olarak önerilmiş ve kefirin hastalar, yaşlılar, hamile veya emziren kadınlar, bebekler, laktoz intoleransı olan kişiler başta olmak üzere sağlıklı insanlarca da tüketiminin tavsiye edildiği bildirilmiştir (Sezer, 2003; Sağdıç ve ark., 2004; Terzi, 2007; Erkmen ve Bozoğlu, 2008; Alpkent ve Demir, 2012).

Kefir, fermantasyonda spesifik olarak *Lactobacillus kefiri, Leuconostoc, Lactococcus* ve *Acetobacter* cinslerinin değişik suşları ile laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve etmeyen (*Saccharomyces unisporus, Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces exiguus*) mayaları içeren starter kültürler ya da kefir danelerinin kullanıldığı fermente süt ürünü şeklinde tanımlanmaktadır (TGK, 2009). Kökeni yüzyıllar öncesine dayandığı bilenen (Irigoyen ve ark., 2005) ve ilk olarak Kafkasya'daki Türklerin keçi tulumunda taşıdıkları taze sütün bazen köpüren bir içecek olduğunu fark etmesiyle ortaya çıktığı düşünülen (Ertekin, 2008) kefir, dünya üzerinde pek çok ülkede tanınmakta ve kefir danelerinin starter kültür olarak kullanılmasıyla geleneksel olarak üretilmekte ve tüketilmektedir (Jianzhong ve ark., 2009).

Kefir danesi minyatür karnabahara veya patlamış mısıra benzeyen küçük, yaklaşık 3-20 mm çapında, düzensiz şekilli, bakteri ve mayaların içine yerleştiği, dallı glukogalaktan bir yapıdan ve kefiran olarak isimlendirilen inert bir polisakkarit/protein matriksinden oluşmaktadır (Ertekin, 2008; Miguel ve ark., 2010; Magalhães ve ark., 2011; Leite ve ark., 2012). Kefir fermantasyonunda laktik asit ve alkol fermantasyonları eş zamanlı yürümekte olup mayalar ve laktik asit bakterileri simbiyotik bir ilişki içinde fermantasyondan sorumludur (Jianzhong ve ark., 2009). Laktik asit bakterileri başlıca laktik asit üretimini; mayalar ise etanol ve karbondioksit üretimini sağlayarak kefirin kendine ait tipik aroması olan keskin asitli mayamsı lezzeti ve karbondioksitin dilde yarattığı batıcı hissi oluşturmaktadırlar (Irigoyen ve ark., 2005).

Karmaşık bir mikroflora içeren kefir daneleri, kefire kendine özgü özellikler kazandırmaktadır. Kefir danelerinin mikroflorasındaki popülasyonun çeşitliliği, türü ve sayısı başta olmak üzere, kullanılan sütün biyokimyasal özellikleri ve mikrobiyolojik profili ya da üretimde kullanılan yönteme ilişkin fiziksel ya da coğrafi farklılıklar son ürünün renk, tat, koku, tekstür ya da kimyasal veya mikrobiyal kompozisyonunda farklılıklara yol açmaktadır (Witthuhn ve ark., 2005). Bu

sebeple standart kalitede ve güvenli üretim için kefir üretiminde kefir danesinin kullanımı endüstriyel üretimi sınırlamakta ve starter kültür kullanımını zorunlu kılmaktadır.

Kefir gibi probiyotik ürünlerin fonksiyonel özelliklerini gösterebilmesi açısından, bu ürünlerin üretiminde kullanılacak olan mikroorganizmaların insan bağırsak sisteminin doğal florasında bulunması önemlidir. Ancak daha da önemlisi bu mikroorganizmaların tüketim sonrasında sindirim sisteminde canlı kalarak bağırsağa ulaşması ve burada gelişerek yararlı etkiler göstermesidir (Yalçın, 2012). Tüm bu faktörler göz önünde bulundurulduğunda ister geleneksel yöntemlerle kefir danesi kullanılarak, ister endüstriyel yöntemlerle starter kültür kullanılarak üretilen son üründeki mikrobiyal floranın sayısı, türü ve canlılığı ürünün biyoyararlılığı açısından son derece önemlidir. Bu sebeple mevcut çalışmada hem geleneksel yöntemlerle laboratuvar koşullarında üretilmiş, hem endüstriyel olarak üretilip pazara sunulmuş kefirlerin hem de geleneksel üretimde kullanılan kefir danelerinin mikrobiyal profili araştırılarak ürünün güvenliği açısından değerlendirilmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Bu çalışmada piyasada satışa sunulan, endüstriyel yöntemlerle farklı firmalarca üretilmiş 3 adet kefir örneği (A, E, İ), geleneksel yöntemle kefir üretiminde kullanılan ve farklı yörelere ait olan 3 adet kefir danesi örneği (B, O, T) ve temin edilen kefir daneleri ile laboratuvar koşullarında üretilen 3 farklı kefir örneği (ÜB, ÜO, ÜT) materyal olarak kullanılmıştır. Laboratuvar koşullarında üretimde geleneksel yöntem baz alınmış ve sıcaklığı 20-25^{o}C'ye ayarlanan pastörize süt %2-10 oranında kefir danesi ile inoküle edilmiştir. Bu amaçla 1 litrelik cam şişelerde ambalajlanmış ve pastörize şekilde satışa sunulan tam yağlı inek sütü kullanılmış olup, 20-25^{o}C'de, 18-24 saat fermantasyon sonrası kefir daneleri ayrılmış ve elde edilen kefir derhal 4^{o}C'ye soğutulmuştur. Piyasadan temin edilen endüstriyel kefir örnekleri ve geleneksel kefir üretiminde kullanılan daneler soğuk koşullar altında laboratuvara getirilerek 24 saat içinde analize alınmıştır. Laboratuvar koşullarında üretilen kefir örnekleri ise üretimin tamamlanmasını müteakip en geç 24 saat içinde analize alınmıştır. Analiz edilen tüm örnekler laboratuvara getirildiği andan analize alınana dek buzdolabı koşullarında (4±2^{o}C) muhafaza edilmiştir. Örnek temini sırasında endüstriyel örnekler yerel süpermarketlerden orijinal ambalajları ile, kefir daneleri ise mevcut ambalajları ile laboratuvara ulaştırılmıştır. Örnekleme aşamasında ürünün mevcut mikrobiyal florasının korunması amacı ile aseptik teknik ile çalışılmış ve ürünün orijinal ambalajından gelebilecek olası flora ürünün doğal mikroflorasına dahil edilmiştir.

2.2. Metot

Kefir ve kefir danesi örneklerinin mikrobiyolojik profillerinin belirlenmesi amacı ile yapılacak olan analizler için kefir örneklerinden 10 mL, kefir danesi örneklerinden 10 g alınarak aseptik koşullarda 90 mL steril %0,1'lik peptonlu su (PW, Oxoid CM0009) ile stomacher cihazında (Interscience, BagMixer*400) homojenizasyon için 4,5 dakika muamele edilmiştir. Elde edilen bu ilk dilüsyondan steril %0,1'lik PW kullanılarak desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Bu şekilde elde edilen örneklerin toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı (Harrigan ve McCance, 1976), toplam psikrofilik aerobik bakteri sayımı (Harrigan ve McCance, 1976), asetik asit bakteri sayımı (Şengün ve Karabıyıklı, 2011), laktik asit bakteri sayımı (Sharpe ve ark, 1966; Kandler ve Weiss, 1986), maya ve küf sayımı (FDA-BAM, 2001a), koliform bakteri sayımı (FDA-BAM, 2002), *Escherichia coli* sayımı (FDA-BAM, 2002) ve *Staphylococcus aureus* sayımı (FDA-BAM, 2001b) analizleri yapılmış ve analizlere ilişkin detaylar Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Mikrobiyolojik analiz yöntemlerine ilişkin detaylar
Table 1. *Details for methods of microbiological analysis*

Analiz	Kullanılan besiyeri	İnkübasyon sıcaklığı/süresi	Kaynak
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı	Plate Count Agar (PCA, Merck, 1.05463.0500)	35°C/24-48saat	Harrigan ve McCance, 1976
Toplam Psikrofilik Aerobik Bakteri Sayımı	Plate Count Agar (PCA, Merck, 1.05463.0500)	5°C/14 gün	Harrigan ve McCance, 1976
Asetik Asit Bakteri Sayımı	Yeast extract Peptone Mannitol Agar [1] [YPM, %0,5 Yeast Extract (Oxoid, LP0021), %0,3 Peptone (Oxoid, LP0037), %2,5 Mannitol (Merck, 1.05982.0500), %1,2 Agar (Difco, 0140-01)]	30°C/2-5 gün	Şengün ve Karabıyıklı, 2011
Laktik Asit Bakteri Sayımı	Man, Rogosa and Sharpe Agar[1] [MRSA, 10,0 g Proteose Peptone (Merck, 1.07229); 10,0 g Beef Extract (Fluka, B4888), 5,0 g Yeast Extract (Oxoid, LP0021); 20,0 g Glucose (Merck, 1.08342.1000); 1,0 g Tween 80 (Sigma-Aldrich, 59924); 2,0 g Dipotassium phosphate (Merck, 1.05104.1000); 5,0 g Sodium acetate trihydrate (Merck, 1.06265.5000), 2,0 g Ammonium citrate trihydrate (Sigma-Aldrich, A1332); 0,2 g Magnesium sulfate.7H_2O (Merck, 1.05886.0500); 0,05 g Manganese sulfate.4H_2O (Sigma-Aldrich, M8179); 1000mL distile su] M17 Agar (Difco 218571)	35°C/5-7 gün	Sharpe ve ark, 1966; Kandler ve Weiss, 1986
Maya ve Küf Sayımı	Potato Dextrose Agar (PDA, Merck, 1.10130.0500)	25°C/5 gün	FDA-BAM, 2001a
Koliform Bakteri Sayımı	Laurly Sulphate Tryptose Broth (LSTB, Merck, 1.10266.0500) Brilliant Green Laktoz Broth (BGLB, Merck, 1.05454.0500)	35°C/24-48 saat	FDA-BAM, 2002
Escherichia coli Sayımı	*Escherichia coli* Broth (ECB, Merck, 1.10765.0500)	44,5-45,5°C/ 24-48 saat	FDA-BAM, 2002
Staphylococcus aureus Sayımı	Baird Parker Agar (BPA, Merck, 1.05406.0500)	35°C/45-48 saat	FDA-BAM, 2001b

[1]: Verilen içerik doğrultusunda laboratuvarda hazırlanmıştır.

Mikrobiyolojik analizlerden elde edilen veriler SPSS (SPSS 20 for Windows Evaluation Version; SPSS Inc., Chicago, USA) paket programı aracılığı ile analiz edilmiştir. Verilere ilişkin değerlendirmelerde elde edilen verilerin normal dağılım göstermemesinden dolayı parametrik olmayan teknikler kullanılmıştır. Anlamlılık seviyesi olarak 0,05 kullanılmış olup $p<0,05$ olması durumunda anlamlı farklılığın olduğu, $p>0,05$ olması durumunda ise anlamlı farklılığın olmadığı kabul edilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre kefirin mikrobiyolojik güvenliğinin değerlendirilmesinde ürünün koliform bakteri, küf ve *Escherichia coli* içeriği açısından değerlendirilmesi talep edilmiş olup (TGK, 2009) bu parametrelere ilişkin limitler

Çizelge 2 ve 3'te yer almaktadır. Buna ilaveten yapılan çalışmada ürünün geleneksel üretim şekli göz önünde bulundurularak güvenliği açısından *Staphylococcus aureus* içeriği açısından da değerlendirilmesi uygun bulunmuştur. Kefir, fermente bir ürün olması ve starter kültür ya da bu niteliğe sahip kefir danesi ilavesi ile üretilmesi sebebiyle, üründe gelişmesi istenen mikrobiyal floranın da kontrolü gereklidir. Bu amaçla ilgili tebliğ baz alınarak (TGK, 2009) örneklerdeki laktik asit bakterilerinin, asetik asit bakterilerinin ve mayaların da sayım sonuçları değerlendirilmiştir.

Çizelge 2. Kefirin mikrobiyolojik özellikleri (TGK, 2009)
Table 2. *Microbiological properties of kefir (TGK, 2009)*

Kriter	**Kefir**
Toplam Spesifik Mikroorganizma (kob/g)	En az 10^7
Etikette Belirtilen Toplam İlave Mikroorganizma (kob/g)[1]	En az 10^6
Mayalar (kob/g)	En az 10^4

[1]: İlgili tebliğ kapsamında yer alan ürünlerin üretiminde bu tebliğin tanımlar başlıklı 4 üncü maddesinde belirtilen starter kültürlere ilave olarak eklenen diğer starter ve/veya yan kültürler

Çizelge 3. Kefirin mikrobiyolojik kriterleri (TGK, 2009)
Table 3. *Microbiological criteria of kefir (TGK, 2009)*

Ürün	**Mikroorganizmalar**	**Numune alma planı**		**Limitler**	
		n	**c**	**m**	**M**
Kefir	Koliform bakteriler ([1])	5	2	9	95
	Küf	5	2	10^2	10^3
	E. coli ([1])	5	0	<3	

[1]: En Muhtemel Sayı (EMS) yöntemi
n: Partiden, bağımsız ve rasgele seçilen numune sayısı
c: m ve M arasında olmasına izin verilen maksimum numune sayısı (M değeri taşıyabilecek en fazla numune sayısını)
m: (n-c) sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla mikrobiyolojik değer
M: c sayıdaki numunenin bu değeri aşması halinde uygunsuz olup kabul edilemez olduğunu gösteren mikroorganizma sayısı

Çalışma kapsamında analize alınan geleneksel (ÜB, ÜO, ÜT) ve endüstriyel (A, E, İ) kefirler ile kefir danelerinin (B, O, T) mikrobiyolojik profillerinin belirlenmesi amacı ile yapılan analizler sonucunda, endüstriyel kefir örneklerinin (A, E, İ) toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı 6,12 ile 7,24 log kob/ml aralığında; toplam psikrofilik aerobik bakteri sayısı 6,05 ile 7,08 log kob/ml aralığında; asetik asit bakteri sayısı 5,98 ile 6,26 log kob/ml aralığında; laktik asit bakteri sayısı 1,24 ile 7,85 log kob/ml aralığında; maya sayısı <1,00 ile 5,68 log kob/ml aralığında; küf sayısı <1,00 log kob/ml olarak; koliform bakteri ve *Escherichia coli* sayısı <3 ile 49,66 EMS/ml aralığında tespit edilmiştir (Çizelge 4). Aynı analiz sonuçları laboratuvar koşullarında geleneksel yöntemlerle üretilen kefirler (ÜB, ÜO, ÜT) için sırasıyla; 7,91 ile 8,50 log kob/ml; 7,17 ile 7,44 log kob/ml; 6,86 ile 7,55 log kob/ml; 6,54 ile 7,91 log kob/ml; 1,56 ile 5,82 log kob/ml; <1,00 log kob/ml; <3 ile >1100 EMS/ml ve <3 EMS/ml olarak belirlenmiştir (Çizelge 5). Laboratuvar koşullarında üretilen bu kefirlerin üretiminde kullanılan kefir daneleri (B, O, T) için ise aynı analiz sonuçları 5,74-7,03 log kob/g; <1,00-4,72 log kob/g; 5,28-6,89 log kob/g; 5,28-6,07 log kob/g; <1,00-5,32 log kob/g; <1,00-3,04 log kob/g; <3->1100 EMS/g ve <3-15,27 EMS/g şeklinde sıralanmıştır (Çizelge 6). Analize alınan endüstriyel kefir örneklerinin (A, E, İ) toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı sonuçları arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunmazken ($p>0,05$); kefir danesi örnekleri arasında B kodlu örneğin ve bu danelerden üretilen kefir örnekleri arasında da benzer şekilde ÜB kodlu örneğin sayım sonucu diğer örneklere kıyasla anlamlı derecede farklıdır ($p<0,05$). B kodlu kefir danesinden üretilen ÜB kodlu kefir örneğinde

fermantasyon sırasında yaklaşık 1 log düzeyinde artış görülürken, O ve T kodlu kefir danelerinden üretilen ÜO ve ÜT için bu artışın 2 log düzeyinden fazla oluşu dikkati çekmiştir. Kefir danesi örneklerinden üretilen ÜB, ÜO ve ÜT kodlu kefir örneklerinin toplam psikrofilik aerobik bakteri sayım değerleri, E ve İ kodlu endüstriyel kefir örneklerine göre daha yüksek olup ($p<0,05$), bu durum endüstriyel kefir örneklerinin üretiminde kullanılan starter suşların psikrofilik karakterde olmadığı şeklinde yorumlanmıştır. Kefir danesi örnekleri ile bu danelerden üretilen kefir örnekleri, asetik asit bakteri sayımı açısından kendi aralarında değerlendirildiğinde; B kodlu kefir danesi örneği ile bu daneden üretilen ÜB kodlu kefir örneğinin sayım sonucu arasında anlamlı bir farklılık yokken ($p>0,05$), ÜO ve ÜT kodlu kefir örneklerinde, bu örneklerin danelerine kıyasla daha yüksek değerler görülmektedir ($p<0,05$). Laktik asit bakteri sayımı sonuçları ele alındığında, A ve İ kodlu endüstriyel öreklerin E, ÜB, ÜO ve ÜT kodlu örneklerden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük sayıda laktik asit bakterisi içerdiği görülmüştür ($p<0,05$). Kefir danesi örneklerinin maya sayım sonuçları kendi aralarında değerlendirildiğinde sadece T kodlu kefir danesi örneğinden herhangi bir sayım sonucu alınamamış ($p<0,05$) ancak diğer örnekler arasındaki farkın önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Kefir danesi örneklerinden üretilen kefir örnekleri kendi aralarında değerlendirildiğine ise, ÜT kodlu kefir örneğinin maya sayım sonucu diğer örneklere göre oldukça düşük çıkmıştır ($p<0,05$). Bunun nedeni olarak herhangi bir maya sayımı alınamayan T kodlu kefir danesi örneğinde tespit edilebilir düzeyin altında maya hücresi olduğu fermantasyon aşamasında ise gelişerek sayım sonuçlarını etkilediği düşünülmektedir.

Çizelge 4. Endüstriyel olarak üretilmiş kefir örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları
Table 4. *Results of microbiological analyses of kefir samples industrially produced*

ANALİZLER	ÖRNEK KODU		
	A	**E**	**İ**
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısı (log kob/ml)	7,24 (±1,70)$^{a\,1}$	6,12 (±0,19)^{a}	6,36 (±0,19)^{a}
Toplam Psikrofilik Aerobik Bakteri Sayısı (log kob/ml)	7,08 (±0,65)^{a}	6,05 (±0,11)^{a}	6,17 (±0,06)^{a}
Asetik Asit Bakteri Sayısı (log kob/ml)	6,26 (±0,18)^{a}	5,99 (±0,17)^{b}	5,98 (±0,17)^{b}
Laktik Asit Bakteri Sayısı (log kob/ml)	1,24 (±3,05)^{a}	7,85 (±1,22)^{b}	5,74 (±0,83)^{c}
Maya Say Sayısı (log kob/ml)	5,68 (±0,24)^{a}	2,35 (±1,18)^{b}	<1,00 (±0,00)^{c}
Küf Sayısı (log kob/ml)	<1,00 (±0,00)^{a}	<1,00 (±0,00)^{a}	<1,00 (±0,00)^{a}
Koliform Bakteri Sayısı (EMS/ml)	49,66 (±31,45)^{a}	<3 (±0,00)^{b}	<3 (±0,00)^{b}
Escherichia coli Sayısı (EMS/ml)	49,66 (±31,45)^{a}	<3 (±0,00)^{b}	<3 (±0,00)^{b}
Staphylococcus aureus Sayısı (log kob/ml)	<1,00 (±0,00)^{a}	<1,00 (±0,00)^{a}	<1,00 (±0,00)^{a}

[1]: n=6 (± Standart sapma), her analiz için ayrı olmak üzere aynı harf ile gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Çizelge 5. Geleneksel olarak üretilmiş kefir örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları
Table 5. *Results of microbiological analyses of kefir samples traditionally produced*

ANALİZLER	ÖRNEK KODU		
	ÜB	**ÜO**	**ÜT**
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısı (log kob/ml)	7,91 (±0,13)^{a1}	8,19 (±0,30)^{b}	8,50 (±0,22)^{b}
Toplam psikrofilik Aerobik Bakteri Sayısı (log kob/ml)	7,44 (±0,32)^{a}	7,36 (±0,21)^{a}	7,17 (±0,00)^{a}
Asetik Asit Bakteri Sayısı (log kob/ml)	7,37 (±0,55)^{a}	7,55 (±0,13)^{a}	6,86 (±0,71)^{a}
Laktik Asit Bakteri Sayısı (log kob/ml)	7,91 (±0,16)^{a}	7,79 (±0,18)^{a}	6,54 (±0,96)^{b}
Maya Sayısı (log kob/ml)	5,82 (±0,09)^{a}	5,62 (±0,05)^{a}	1,56 (±1,81)^{b}
Küf Sayısı (log kob/ml)	<1,00 (±0,00)^{a}	<1,00 (±0,00)^{a}	<1,00 (±0,00)^{a}
Koliform Bakteri Sayısı (EMS/ml)	<3 (±0,00)^{a}	>1100 (±0,00)^{b}	<3 (±0,00)^{a}
Escherichia coli Sayısı (EMS/ml)	<3 (±0,00)^{a}	<3 (±0,00)^{a}	<3 (±0,00)^{a}
Staphylococcus aureus Sayısı (log kob/ml)	<1,00 (±0,00)^{a}	<1,00 (±0,00)^{a}	<1,00 (±0,00)^{a}

[1]: n=6 (± Standart sapma), her analiz için ayrı olmak üzere aynı harf ile gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Çizelge 6. Geleneksel üretimde kullanılan kefir danesi örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları
Table 6. *Results of microbiological analyses of kefir grain samples used for traditional production*

ANALİZLER	ÖRNEK KODU B	O	T
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısı (log kob/g)	7,03 (±0,35)[a] [1]	5,74 (±0,12)[b]	5,92 (±0,47)[b]
Toplam psikrofilik Aerobik Bakteri Sayısı (log kob/g)	3,15 (±1,14)[a]	4,72 (±0,24)[a]	<1,00 (±0,00)[b]
Asetik Asit Bakteri Sayısı (log kob/g)	6,89 (±0,19)[a]	6,24 (±0,59)[a]	5,28 (±0,22)[b]
Laktik Asit Bakteri Sayısı (log kob/g)	6,07 (±0,55)[a]	5,95 (±0,47)[a]	5,28 (±033)[b]
Maya Sayısı (log kob/g)	5,32 (±0,20)[a]	5,09 (±0,16)[a]	<1,00 (±0,00)[b]
Küf Sayısı (log kob/g)	3,04 (±0,06)[a]	<1,00 (±0,00)[b]	<1,00 (±0,00)[b]
Koliform Bakteri Sayısı (EMS/g)	<3 (±0,00)[a]	>1100 (±0,00)[b]	<3 (±0,00)[a]
Escherichia coli Sayısı (EMS/g)	<3 (±0,00)[a]	15,27 (±10,21)[b]	<3 (±0,00)[a]
Staphylococcus aureus Sayısı (log kob/g)	<1,00 (±0,00)[a]	<1,00 (±0,00)[a]	<1,00 (±0,00)[a]

[1]: n=6 (± Standart sapma), her analiz için ayrı olmak üzere aynı harf ile gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Analize alınan kefir ya da kefir danelerinin hiçbirinde *Staphylococcus aureus* tespit edilememiştir. Benzer çalışmalar dikkate alındığında, Ankara'da satışa sunulmuş 5 kefir örneğinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçları ortalama olarak 6,41 log kob/ml olarak bildirilirken (Uslu, 2010), kefir daneleri için bu sayının 9,08 log kob/g (Sezer, 2003) olduğu rapor edilmiştir. Kefir ya da kefir danesinin mikroflorasındaki asetik asit bakterilerini araştıran araştırmacılar analize alınan materyale bağlı olarak 4,00 ile 8,41 log kob/ml-g gibi geniş bir aralıkta değişen sayım sonuçları elde etmişlerdir (Irigoyen ve ark, 2005; Witthuhn ve ark., 2005). Farklı orijinli kefir danelerinin farklı sıcaklıklardaki laktik asit bakteri popülasyonu incelendiğinde 4,95 ile 10,43 log kob/g arasında değişen sonuçlar elde edilmiş (Miguel ve ark., 2010), Çetinkaya ve Elal Mus (2012) iken, Bursa ilindeki farklı perakende satış yerlerinden elde ettikleri 50 adet kefir örneğinde 4,68 ile 8,26 log kob/ml düzeyinde laktik asit bakterilerine ait türlerin mevcut olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada örneklerdeki maya sayısı ortalama olarak 4,88 log kob/ml düzeyinde iken (Çetinkaya ve Elal Mus, 2012), Ankara'da satışa sunulan kefir örneklerinin maya sayım sonuçları ortalama olarak 6,70 log kob/ml düzeyindedir (Uslu, 2010). Fermente süt ürünlerinde önemli kriterlerden biri olarak kabul edilen ürünün koliform bakteri içeriği benzer ürünler için araştırılmış ve 50 adet kefir örneğinin 5'inde koliform bakteri sayısının >1100 EMS/ml düzeyinde olduğu (Çetinkaya ve Elal Mus, 2012), 120 farklı üreticiye ait kefir örneklerinden 39 adedinde koliform kontaminasyonunun tespit edildiği ve ortalama değerin 11,5 EMS/ml düzeyinde olduğu bu ürünlerin 30 tanesinde ise ortalama olarak 7,5 EMS/ml düzeyinde *Escherichia coli* bulunduğu (Dinç, 2008), benzer fermente süt ürünlerinde ise bu sayının <1,00-4,0 log kob/g (Baradei ve ark., 2008), <1,00 log kob/ml (Lore ve ark., 2005) gibi değişken aralıklara sahip olduğu bildirilmiştir. Mevcut çalışmanın sonuçlarında da görüleceği üzere analize alınan örneklerin hiçbirinde *Staphylococcus aureus'*a rastlanmamıştır. Ancak üretimi gereği personel ile direkt teması olan bu gibi ürünlerde *Staphylococcus aureus* kontaminasyonunun her zaman bir risk olarak göz önünde bulundurulması önemlidir. Nitekim Çetinkaya ve Elal Mus (2012), çalıştıkları 50 adet kefir örneğinin *Staphylococcus aureus* sayım değerlerini ortalama 2,38 log kob/ml olarak bulmuşlardır.

4. Sonuç

Çalışma kapsamındaki tüm örneklerin toplam mezofilik aerobik bakteri sayım sonucu değerlendirildiğinde, örneklerin toplam mezofilik aerobik florasının büyük oranda laktik asit bakterileri ve asetik asit bakterilerinden oluştuğu

gözlenmektedir. Bununla birlikte toplam mezofilik aerobik bakteri sayım sonuçlarının patojen ve/veya saprofit mikroorganizmaları da içerebileceği göz ardı edilmemelidir. Örnekler arasında psikrofilik bakteri yükü açısından en düşük grubu geleneksel üretimde kullanılan kefir danesi grubunun oluşturduğu, en yüksek grubun ise bu danelerden üretilen geleneksel kefir örnekleri olduğu saptanmıştır. Mevcut durum geleneksel üretimin sıcaklık tolerans aralığının özellikle psikrofilik sıcaklıklara karşı daha geniş olduğu düşüncesini doğurmuştur. Analize alınan örneklerin laktik asit bakteri sayıları Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre değerlendirildiğinde endüstriyel kefir örneklerinin tebliğde belirtilen limitlerin altında kaldığı, geleneksel yöntemle kefir danesinden üretilen örneklerinin ise tebliğe uygun olduğu görülmüştür. Bu durum özellikle probiyotik etki gösterecek olan laktik asit bakteri içeriği sebebi ile tüketilen bir ürün için oldukça düşündürücüdür. Benzer durum ürünlerin maya içerikleri için de geçerli olup ilgili tebliğ ile uyum gösteren örneklerin geleneksel yöntemlerle laboratuvar koşullarında üretilen kefirlerden iki grubun olduğu buna karşılık endüstriyel kefir örneklerinden sadece bir grubun ilgili limitleri karşıladığı belirlenmiştir. Örneklerin küf içeriği başlıca mikotoksin riski nedeniyle önemli olup, gerek geleneksel gerekse endüstriyel kefir ürünlerinde küf tespit edilmemiş olması ürün güvenliği açısından olumlu bulunmuştur. Bu açıdan değerlendirildiğinde ürün ilgili tebliğdeki limitleri karşılamaktadır. Ancak geleneksel kefir danelerinde tespit edilen küf sayısı üründe görülmemekle birlikte, kefir danelerinin karmaşık matriksi ve kontaminasyona açık proses koşulları sebebiyle küf bulaşısının her zaman risk teşkil edebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Örneklerde risk unsuru olabilecek bir diğer faktör ise tebliğde de belirtildiği üzere ürünün koliform bakteri ve *Escherichia coli* içeriğidir. Bu açıdan değerlendirildiğinde endüstriyel ürünlerde standardı karşılamayan ürün grubu mevcut olup, laboratuvar koşullarında üretilen kefirlerin tamamı standartta yer alan kriterler ile uyumludur. Bu durum, geleneksel üretimin standardize edilmemiş ve kontaminasyona açık proses koşulları ile açıklanmakla birlikte endüstriyel üretim koşulları için proses şartlarının mutlaka gözden geçirilmesi ve iyileştirilmesi gerektiğini işaret etmektedir.

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde mevcut koşullarda piyasaya sürülen ürünlerin yasal limitleri karşılamadığı ve probiyotik etki gösterebilecek düzeyde canlı mikroorganizma içermediği tespit edilmiştir. Buna karşılık geleneksel yöntemle üretilen kefir örneklerinde probiyotik mikroorganizma sayısı nispeten daha yüksek düzeylerde bulunmuştur. Ancak, geleneksel üretim yönteminin doğası gereği kontaminasyona açık olması, standart ürün eldesine imkan vermemesi, starter kültür yerine kullanılan kefir danesinde meydana gelebilecek her türlü değişimin ürün karakterini etkilemesi gibi sebeplerle tercih sebebi olması doğru bir yaklaşım değildir. Sonuç olarak, ürünün endüstriyel üretim koşullarının gözden geçirilmesi ve gerekli düzenleme ya da iyileştirmelerle standart kalitede, biyoyararlılık gösterebilecek düzeyde canlı probiyotik mikroorganizma içeriğine sahip ve gerek kimyasal gerekse mikrobiyal açıdan güvenli üretimin sağlanması gerekmektedir.

Kaynaklar

Alpkent Z ve Demir M (2012). Kefir ve kefirin sağlık üzerine etkileri. http://gida.muhfak.akdeniz.edu.tr/_dinamik/31/156.pdf; (13.08.2012).

Baradei G Buchet A and Ogier JC (2008). Bacterial biodiversity of traditional Zabady fermented milk. International Journal of Food Microbiology, 12: 295-301.

Çetinkaya F and Elal Mus T (2012). Determination of microbiological and chemical characteristics of kefir consumed in Bursa. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 59: 217-221.

Dinç A (2008). Kefirin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. (Y. Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi. Besin Hijyeni Ve Teknolojisi ABD, Ankara.

Erkmen O and Bozoğlu TF (2008). Food Microbiology 4. Beneficial uses of microorganisms for food preservation and health. İlke Yayınevi, Ankara.

Ertekin B (2008). Yağ ikame maddeleri kullanımının kefir kalite kriterleri üzerine etkisi. (Y. Lisans Tezi), Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği ABD, Isparta.

FDA-BAM (2001a). Yeasts, molds and mycotoxins. Bacteriological analytical manual, Chapter 18, April, 2001. (http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm)

FDA-BAM (2001b). *Staphylococcus aureus*. Bacteriological Analytical Manual, Chapter 12, January, 2001. (http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm)

FDA-BAM (2002). Enumeration of Escherichia *coli* and the coliform bacteria. Bacteriological Analytical Manual, Chapter 4, September, 2002. (http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm)

Hacıoğlu G ve Kurt G (2012). Tüketicilerin fonksiyonel gıdalara yönelik farkındalığı, kabulü ve tutumları. İşletme ve Ekonomi Araştırmaları Dergisi, 3(1): 161-171.

Harrigan WF and McCance ME (1976). Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Pres, London.

Irigoyen A Arana I Castiella M Torre P and Ibánez FC (2005). Microbiological, physicochemical and sensory characteristics of kefir during storage. Food Chemistry, 90: 613-620.

Jianzhong Z Xiaoli L Hanhu J and Mingsheng D (2009). Analysis of the microflora in Tibetan kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. Food Microbiology, 26: 770-775.

Kandler O and Weiss M (1986). Regular, nonsporing Gram-positive rods. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.2, Sneath PHA Mair NS Sharpe ME Hold JG (Eds), Williams and Wilkins, USA.

Leite AMO Mayo B Rachid CTCC Peixoto RS Silva JT Paschoalin VMF and Delgado S (2012). Assessment of the microbial diversity of Brazilian kefir grains by PCR-DGGE and pyrosequencing analysis. Food Microbiology, 31: 215-221.

Lore TA Mbugua SK and Wangoh J (2005). Enumeration and identification of microflora in *suusac*, a Kenyan tarditional fermented camel milk product. Swiss Society of Food Science and Technology, 38: 125-130.

Magalhães KT Dragone G Pereira GVM Oliveira JM Domingues L Teixeira JA Silva JBA and Schwan RF (2011). Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. Food Chemistry, 126: 249-253.

Miguel MGCP Cardoso PG Lago LA and Schwan RF (2010). Diversity of bacteria present in milk kefir grains using culture-dependent and culture-independent methods. Food Research International, 43: 1513-1528.

Sağdıç O Küçüköner E ve Özçelik S (2004). Probiyotik ve prebiyotiklerin fonksiyonel özellikleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 35(3-4): 221-228.

Sanders ME (2003). Probiotics: Considerations for human health. Nutrition Reviews, 61(3): 91- 99.

Sezer Ç (2003). Kefirde laktik asit bakterilerinin tür düzeyinde araştırılması. (Y. Lisans Tezi), Kafkas Üniversitesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD, Kars.

Sharpe ME Fryer E and Smith DG (1966). Identification of lactic acid bacteria. Identification Method for Microbiologists Part A. Gibbs BM and Skinner FA (Eds.), London Academic Pres.

Şengün İ and Karabıyıklı Ş (2011). Importance of acetic acid bacteria in food industry. Food Control, 22: 647-656.

Terzi G (2007). Kefirin bileşimi ve beslenme açısından önemi. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, 78(1): 23-30.

TGK (2009). Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, Tebliğ No: 2009/25.

Uslu G (2010). Ankara piyasasında satılan kefirlerin mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duyusal özellikleri üzerine bir araştırma (Y.Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.

Vural A (2004). Fonksiyonel gıdalar ve sağlık üzerine etkileri. Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi, 6: 51-58.

Witthuhn RC Schoeman T and Britz TJ (2005). Characterisation of the microbial population at different stages of kefir production and kefir grain mass cultivation. International Dairy Journal, 15: 383-389.

Yalçın A (2012). Yoğurt ve ayran üretiminde probiyotik bakterilerin kullanımı, III. Süt ve Süt Hayvancılığı Öğrenci Kongresi, 21 Mayıs, 2012, Aksaray.