



PROBİYOTİK ÜZÜM SUYU ÜRETİMİ

Sümeyye GÜMÜŞ

Yüksek Lisans

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Doç.Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ**

2021

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PROBİYOTİK ÜZÜM SUYU ÜRETİMİ

Sümeyye GÜMÜŞ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç.Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ

TEKİRDAĞ-2021

Her hakkı saklıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PROBİYOTİK ÜZÜM SUYU ÜRETİMİ

Sümeyye GÜMÜŞ

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ

Bu tez çalışmasında, *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 ve *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 probiyotik bakteri suşları kullanılarak üretilen üzüm suyu örnekleri 4 °C’de 21 gün süresince depolanmıştır. Depolamanın 1., 7., 14., ve 21. günlerinde üzüm suyu örneklerinin bazı fizikokimyasal özellikleri ile probiyotik bakteri canlılık seviyeleri takip edilmiştir. Çalışma esnasında yapılan analizlerde, üzüm suyuna ilave edilen *L. acidophilus* ve *L. fermentum* depolamanın 14. gününe kadar canlılık seviyelerini arttırmıştır. 14. günden

sonra *L. acidophilus* %7,7 oranında düşüş göstererek 2×10^7 kob/mL değerine, *L. fermentum* ise %7,6 oranında düşüş göstererek $1,6 \times 10^7$ kob/mL değerine gerilemiştir. Her iki örnekte probiyotik ürünlerin etki gösterebilmesi için belirlenen 10^6 kob/mL standardını sağlayarak 21 gün boyunca probiyotik özellik göstermiştir. *L. acidophilus* ilave edilmiş üzüm suyu örneklerinin brix değeri depolama boyunca artış gösterirken *L. fermentum* ilaveli üzüm suyu örneklerinin brix değerlerinde düşüş gözlemlenmiştir. Tüm örneklerin pH değerleri incelendiğinde 3,64 ile 3,42 değerleri arasında değiştiği gözlemlenmiştir ($p > 0.05$). Titrasyon değerlerinde ise, kontrol örneğinin %titrasyon asitliği depolama boyunca sabit kalırken probiyotik bakteri ilaveli örneklerde artış belirlenmiştir. Çalışmanın 21 günlük depolama süresi esnasında fenolik madde miktarları kontrol örneğinde %12 oranında, *L. fermentum* ilave edilen üzüm suyu örneğinde %15,26 oranında artış göstermiştir. *L. acidophilus* ilave edilen üzüm suyu örneğinde ise %14'lük bir kayıp oluşmasına rağmen standart değerler arasında kalmıştır. Tüm üzüm suyu örneklerinin viskozite ve renk (L^* , a^* , b^*) değerlerinde ise istatistiksel olarak önemli bir düşüş saptanmıştır ($p < 0.05$). 21 günlük depolama boyunca tüm kalite parametreleri ve canlılık seviyeleri göz önünde bulundurulduğunda *L. acidophilus* ve *L. fermentum* ilave edilmiş üzüm suyu içeceğinin geliştirilmesi konusunda umut vadettiği ve genel bulguları üzüm suyunun probiyotik bakteriler için uygun bir gıda matrisi olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Fonksiyonel içecek, Probiyotik, Üzüm suyu, *L. acidophilus*, *L. fermentum*

2021, 73

ABSTRACT

Master's Degree Thesis

PRODUCTION OF PROBIOTIC GRAPE JUICE

Sümeyye GÜMÜŞ

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr.Ahmet Şükrü DEMİRCİ

In this thesis study, grape juice samples of *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 and *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 probiotic bacteria strains were stored at 4 °C for 21 days. Some physicochemical properties and probiotic bacteria viability levels of grape juice

samples were followed on the 1 st, 7th, 14th and 21st days of storage. In the analyses conducted during the study, *L. acidophilus* and *L. fermentum* added to grape juice increased the viability levels until the 14th day of storage. After the 14th day, *L. acidophilus* decreased by 7.7% to 2×10^7 cfu /mL, while *L. fermentum* decreased by 7.6% to 1.6×10^7 cfu / mL. Both samples showed probiotic properties for 21 days by providing 10^6 cfu / mL standard for probiotic products to be effective. While the brix value of grape juice samples supplemented with *L. acidophilus* increased during storage, a decrease was observed in the brix values of *L. fermentum* added grape juice samples. When the pH values of all samples were examined, it was observed that it ranged between 3,64 and 3,42 ($p > 0.05$). In the titration values, while the titration acidity% of the control sample remained constant during the storage, an increase was observed in the samples with probiotic bacteria. During the storage period of the study, the amount of phenolic matter increased by 12% in the control sample and by 15.26% in the grape juice sample to which *L. fermentum* was added. Although there was a loss of 14% in the grape juice sample to which *L. acidophilus* was added, it remained within the standard values. A statistically significant decrease was found in the viscosity and color values (L^* , a^* , b^*) of all grape juice samples ($p < 0.05$). Considering all quality parameters and vitality levels during 21 days of storage, the development of *L. acidophilus* and *L. fermentum* added grape juice drink is promising and its general findings show that grape juice is a suitable food matrix for probiotic bacteria.

Key words: Functional drink, Probiotic, Grape juice, *L. acidophilus*, *L. fermentum*

2021, 73

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT	ii
ŞEKİL DİZİNİ.....	v
ÇİZELGE DİZİNİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
TEŞEKKÜR.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER	5
2.1. Fonksiyonel Gıdalar.....	5
2.2. Probiyotikler	6
2.2.1. Probiyotik Tanımı ve Tarihçesi.....	6
2.2.2 Probiyotik Mikroorganizmalarda Bulunması Gereken Özellikler	7
2.2.3. Probiyotik Gıdalarda Kullanılan Mikroorganizmalar	8
2.2.4. Probiyotiklerin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri.....	10

2.2.5. Probiyotik Miktarları.....	12
2.2.6. Probiyotiklerin Proses ve Depolama Boyunca Canlılığını Etkileyen Faktörler.....	12
2.2.7. Çalışmamızda Kullanılan Probiyotik Mikroorganizmalar	14
2.2.7.1. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	14
2.2.7.2. <i>Lactobacillus fermentum</i>	14
2.2.8. Probiyotik Gıda Pazarı	15
2.2.9. Probiyotik Mikroorganizmaların Bitkisel Gıdalarda Kullanım Avantajları	15
2.2.10. Meyve Bazlı Probiyotik Gıdalar	16
2.3. Üzüm.....	19
2.3.1. Üzüm ve Üzüm Üretimi	19
2.3.2. Üzüm Suyu.....	21
2.3.3. Üzüm Suyunun Sağlık Yararları	22
2.3.4. Üzüm Suyu Üretimi	23
3. MATERYAL VE METOD	25
3.1. MATERYAL	25
3.2. METOD	25
3.2.1. Üzüm Suyu Üretiminde Kullanılan Kültürlerin Aktive Edilmesi.....	25
3.2.2. Üzüm Suyu Üretim Prosesi.....	26
3.2.3. Probiyotik Bakterilerin Üzüm Suyuna İlavesi	28
3.2.4. Probiyotik Bakteri Sayımı.....	29
3.2.5. pH Tayini.....	29
3.2.6. Suda Çözünür Kuru Madde Tayini (Brix).....	30
3.2.7. Toplam Titrasyon Asitliği (TTA).....	30
3.2.8. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	31
3.2.9. Reoloji Analizi	33
3.2.10. Renk Analizi.....	34
3.2.11. İstatiksel Analizler.....	35
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	36
4.1. Mikrobiyolojik Analizler	36
4.1.1. Probiyotik Bakteri Sayıları.....	36
4.2. Fizikokimyasal Analizler	42
4.2.1. Üzüm Suyu Örneklerinin Brix Değerleri	42
4.2.2. Üzüm Suyu Örneklerinin pH Değerleri	44
4.2.3. Üzüm Suyu Örneklerinin % Titrasyon Asitliği Değerleri.....	47
4.2.4. Üzüm Suyu Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Değerleri.....	49

4.2.5. Üzüm Suyu Örneklerinin Reoloji Değerleri.....	53
4.2.6. Üzüm Suyu Örneklerinin Renk Değerleri.....	56
4.2.6.1. L* değerleri.....	56
4.2.6.2. a* değerleri	58
4.2.6.3. b* değerleri.....	60
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
5.1. Sonuçlar	62
5.2. Öneriler	64
6. KAYNAKLAR.....	66
7. ÖZGEÇMİŞ	Error! Bookmark not defined.



ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Probiyotik gıdalarda kullanılan mikroorganizma türleri.....	9
Şekil 2.2. Probiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki etkileri	11
Şekil 2.3. Probiyotiklerin proses ve depolama boyunca canlılığını etkileyen faktörler.....	13
Şekil 2.4. Probiyotikli üzüm suyunun sağlık yararları	23
Şekil 3.1. MRS Broth besiyerlerinde aktive edilen probiyotik bakteriler.....	25
Şekil 3.2. Probiyotik üzüm suyu üretimi.....	27
Şekil 3.3. Probiyotik üzüm suyu örnekleri deneme deseni	28
Şekil 3.4. Probiyotik üzüm suları görünümü.....	29
Şekil 3.5. Üzüm suyu titrasyon deneyi.....	31
Şekil 3.6. Folin -Coicelteau reaktifi ile fenolik bileşenlerin reaksiyonu.....	31
Şekil 3.7. Gallik asit standardı ile oluşturulmuş kalibrasyon eğrisi	33
Şekil 3.8. Üzüm suyu reoloji analizi	34
Şekil 3.9. L*, a*, b* renk değerlerinin X-Y düzlemlerindeki şematik görünümü	35
Şekil 4.1. Probiyotik bakteri ilaveli üzüm suyu örneklerinde depolama süresince bakteri değişimi (log kob/mL).....	38
Şekil 4.2. LAÜS ve LFÜS örneklerinin 1.gün MRS Agara ekimi sonrasında oluşan koloniler	40

Şekil 4.3. LAÜS ve LFÜS örneklerinin 7.gün MRS Agara ekimi sonrasında oluşan koloniler	40
Şekil 4.4. LAÜS ve LFÜS örneklerinin 14.gün MRS Agara ekimi sonrasında oluşan koloniler	41
Şekil 4.5. LAÜS ve LFÜS örneklerinin 21.gün MRS Agara ekimi sonrasında oluşan koloniler	42
Şekil 4.6. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince brix değişimi	44
Şekil 4.7. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince pH değişimi	46
Şekil 4.8. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince % TTA değişimi	48
Şekil 4.9. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince toplam fenolik madde değişimi (mg GAE/mL)	51
Şekil 4.10. Kontrol örneklerinin depolama boyunca ölçülen viskozite eğrileri	54
Şekil 4.11. LAÜS örneklerinin depolama boyunca ölçülen viskozite eğrileri	54
Şekil 4.12. LFÜS örneklerinin depolama boyunca ölçülen viskozite eğrileri	55
Şekil 4.13. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince reoloji değişimi (Pa.s)	55
Şekil 4.14. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince renk (L*) değişimi	57
Şekil 4.15. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince renk (a*) değişimi	59
Şekil 4.16. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince renk (b*) değişimi	61

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 2.1. Fonksiyonel gıdaların sınıflandırılması	5
Çizelge 3.1. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltiler (100-500 mg/L)	32
Çizelge 4.1. Probiyotik bakteri ilaveli üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca probiyotik bakteri sayılarındaki canlılık değişimi (log kob/mL)	37
Çizelge 4.2. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca brix ölçüm değerleri (°Bx)	43
Çizelge 4.3. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca pH ölçüm değerleri	45
Çizelge 4.4. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca % Titrasyon asitliği ölçüm değerleri	47
Çizelge 4.5. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca toplam fenolik madde ölçüm değerleri (mg GAE/mL)	50
Çizelge 4.6. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca reoloji ölçüm değerleri (Pa.s)	53
Çizelge 4.7. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca renk değerleri (L*)	57
Çizelge 4.8. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca renk değerleri (a*)	59
Çizelge 4.9. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca renk değerleri (b*)	61

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
<	: Küçük
>	: Büyük
µl	: Mikrolitre
CFDA	: Çin Gıda ve İlaç Dairesi
CFU	: Colony Forming Unit (Koloni oluşturan birim)
FAO	: Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
FCR	: Folin-Ciocaltue Ratio
FDA	: Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi)
FOSHU Kullanımı	: Japanese Foods for Specified Health Use-Gıdanın Sağlıklı Yaşam İçin
g	: Gram
GAE	: Gallik Asit eşdeğeri

GRAS	: Generally Recognized As Safe (Genellikle güvenilir kabul edilen)
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
IgA	: immünoglobulin-A
ISAPP	: Uluslararası Probiyotik ve Prebiyotikler Derneğine
Kob	: Colony Forming Unit (Koloni oluşturan birim)
L	: <i>Lactobacillus</i>
LAÜS	: <i>Lactobacillus acidophilus</i> Eklenmiş Fonksiyonel Üzüm Suyu
LDL	: Low density lipoprotein (Düşük yoğunluklu lipoprotein)
LFÜS	: <i>Lactobacillus fermentum</i> Eklenmiş Fonksiyonel Üzüm Suyu
log	: Logaritma
M	: Molar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MÖ	: Milattan Önce
MRS	: de Man, Rogosa and Sharpe Agar
N	: Normalite
NaCl	: Sodyum Klorür
NaOH	: Sodyum Hidroksit
nm	: Nanometre
°C	: Derece Santigrad
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	: Hidrojen Potansiyeli
TFM	: Toplam Fenolik Madde
TTA	: Toplam Titrasyon Asitliği
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
V	: Hacim
WHO	: World Health Organisation (Dünya Sağlık Örgütü)



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca değerli bilgi ve birikimleriyle daima destek olup kıymetli zamanını esirgemeyen çok değerli danışman hocam Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ 'ye ve laboratuvar aşamalarında yardımını esirgemeyen Arş. Gör. Didem Sözeri ATİK 'e sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Probiyotikli üzüm suyu üretiminde kullanılan bakterileri kültürlerinin teminini sağlayan Konya Selçuk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümüne ve probiyotikli üzüm suyu üretiminde kullanılan üzüm sularının teminini sağlayan T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsüne teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenim hayatımın her aşamasında bana destek olup daha ileriye ulaşabilmemde ve başarılı olmamda en anlamlı paya sahip, sabır ve sevgi bağıyla üzerimde emekleri çok fazla

olan, maddi manevi hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen sevgili babam İSMAİL GÜMÜŞ
'e ve sevgili annem FATMA GÜMÜŞ 'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

Şubat, 2021

Sümeyye GÜMÜŞ

Gıda Mühendisi



1. GİRİŞ

Günümüzde değişen yaşam koşulları ile beslenme bilincinin gelişmesi ve eğitim seviyesinin artması, beraberinde tüketicilerin beslenme ve gıda üretimi konularına önem vermesine neden olmuştur. Tüketiciler gıdalarda beslenmenin ve kalitenin yanı sıra sağlık açısından fayda sağlamasını da beklemektedir. Bu beklentiler neticesinde araştırmacılar hem besin değeri açısından zengin hem de insan sağlığına olumlu etki gösteren gıdaların üretimine karşı yoğun ilgi göstermektedirler. Bu çerçevede tüketicilerin ihtiyaç duyduğu ve üreticilerin ürün çeşitliliği oluşturmaya çalıştığı fonksiyonel gıdalar kategorisi hızla gelişim gösteren sektörlerden biri olmuştur. Fonksiyonel gıdalar kavramı ilk olarak 1980’li yıllarda Japonya’da ortaya çıkmıştır. 1990’lı yıllarda ise yine Japonya’da alerjik etkiye sahip bileşenlerin gıdadan uzaklaştırılmasıyla içerdiği mevcut bileşenler sayesinde sağlık üzerine olumlu tesirde bulunan gıdaları isimlendirmek amacıyla “Japanese Foods for Specified Health Use - Gıdanın Sağlıklı Yaşam İçin Kullanımı” (FOSHU) kavramı kullanılmıştır (Dölekoğlu, Giray ve Şahin, 2012). Türkiye’de ise 2000’li yılların başında; 5179 sayılı Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine dair mevzuatımızda fonksiyonel gıdalar, “Besleyici etkilerinin yanı sıra bir ya da daha fazla etkili bileşene bağlı olarak sağlığı koruyucu, düzeltici ve/veya hastalık riskini azaltıcı etkiye sahip olup, bu etkileri bilimsel ve klinik olarak ispatlanmış gıdalar” olarak tanımlanmıştır (Anonim, 2014).

Fonksiyonel gıdalar; gıdadaki mevcut yararlı bileşenlerden birinin artırılması ile sağlık yararı olan herhangi bir bileşen eklenilmesi ile veyahut gıdanın doğal yapısında bulunan ve olumsuz etki gösteren bir veya birden fazla bileşenin çıkartılmasıyla mükemmel en yakın ürünleri elde etmeye çalışmaktadır. Besinsel lifler, antioksidanlar, fenolik maddeler, probiyotikler ve prebiyotikler, vitaminler, omega-3 yağ asitleri, oligosakkaritler gibi ilavelerle de fonksiyonel hale getirilebilirler (Dayısoylu, Gezginç ve Cingöz, 2014).

Probiyotik terimi, kelime anlamı olarak Yunancadaki “pro” ve “biota” kelimelerinin birleşiminden türetilmiş olup antibiyotiklerin aksine konağın yaşamına elverişli manasındaki “yaşam için” anlamına gelmektedir. Literatüre girdiğinden beri birçok tanımlamayla ifade edilerek anlamı yenilenen probiyotiklerin son tanımı ise; Dünya Sağlık Örgütü ve Gıda Tarım Örgütü tarafından “yeterli miktarda alındıklarında insan sağlığı üzerinde yararlı etkileri olan canlı mikroorganizmalar” olarak belirlenmiştir (FAO/WHO, 2002). *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Enterococcus*,

Propionibacterium, *Leuconostoc* bakteri türleri ile *Saccharomyces*, *Aspergillus* ve *Candida* gibi maya ve küflerden oluşan türler probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar sınıfındadır (Akan ve Kınık, 2015). Geleneksel olarak üretilen fermente edilmiş turşu, boza, kefir ve tarhana gibi bazı ürünler içerdikleri probiyotik suşları tanımlanmamış ve üretildiği bölge ve üretim şartlarına göre canlı mikroorganizma türünün değişiklik gösterdiği gıdalar probiyotik gıda kavramına uymayıp bu kategoride yer almamaktadır (Halkman, 2013).

Probiyotik gıdaların sağlık açısından beklenen faydayı sağlayabilmesi için tüketim anında alınması gereken minimum canlı mikroorganizmayı içermeleri gerekmektedir. “Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği Ek 2” de belirtilen değerlere göre; probiyotik gıdanın içerisinde raf ömrü sonuna kadar en az 1.0×10^6 kob/g canlı probiyotik mikroorganizma olması gerekmektedir (Anonim, 2017).

Dünya genelinde; olumsuz çevre şartları, ekonomik problemler, sağlıksız gıdaların tüketilmesi insan yaşamını olumsuz etkisi almaktadır. Kanser, diyabet, alerjik reaksiyonlar ve bağırsak problemleri gibi hastalıkların artış göstermesi ve bu hastalıklar ile bağırsak mikroflorası arasındaki bağlantının bilimsel ispatlarla ortaya konması probiyotik içeren gıdalara olan ilgiyi de arttırmaktadır (Balkış, 2011; Hunter ve Hegele, 2017). Probiyotik mikroorganizma içeren gıdalar başta yoğurt ve fermente içecekler olmak üzere gıda pazarında varlığını göstermektedir. Bu ürünleri meyve suyu ve nektarı, bisküvi ve unlu mamuller, margarin ve soya ürünleri takip etmektedir (Güven, 2018). Fonksiyonel gıda ürünlerinin büyük çoğunluğunu (%60-70) probiyotik gıdalar oluşturmaktadır (Akan ve Kınık, 2015).

Üzüm; tarihçesi M.Ö. 5000 yılına kadar dayanan, Vitaceae familyasının *Vitis* cinsinden bilinen en eski kültürü yapılan meyve türüdür (Anonim, 2011). Dünyada ve ülkemizde en çok üretilen meyve çeşitlerinin başında gelen üzüm değişik tüketim şekillerine sahip (sofralık, şaraplık ve kurutmalık olarak değerlendirilmesinin dışında üzüm suyu ve alkol üretiminde), yüksek besin değerli, insan sağlığına faydası bulunan ve bu sebeple yaygın olarak tüketilen bir meyve türüdür. Coğrafi konumu açısından Türkiye; her çeşit üzüm yetiştiriciliği için elverişli bir iklim ekolojisine sahiptir. Bu nedenle, oldukça eski bir bağcılık kültürüne ve asmanın zengin bir gen potansiyeline sahip oluşunun da etkisiyle bütün bölgelerinde bağcılık yapılarak dünyanın her bölgesine yayılan bir coğrafyadadır. Elde edilen üzüm meyvesi taze tüketimlik, kurutmalık, şaraplık olarak değerlendirilmekte ve meyve suyuna da işlenmektedir (Çelik, Kunter, Söylemezoğlu, Boz, Özer ve Atak, 2005; Çetin, Babalık ve Göktürk, 2012).

Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler Tebliği'nde meyve suyu; “sağlam, olgun, taze veya soğukta ya da dondurularak muhafaza edilmiş, tek meyvenin veya daha fazla meyve karışımının yenilebilir kısımlarından elde edilen, elde edildiği meyve ve meyvelerin karakteristik renk, aroma ve tadına sahip, fermente olmamış ancak fermente olabilen ürün olarak tanımlamaktadır” (Anonim, 2014). Üzüm suyunun üretimine üzüm suyuna işlenecek üzümlerin yıkanması ve sap çıkartmasıyla başlanır. Ardından presleme ve filtrasyon işlemleriyle tüm parçacıklar uzaklaştırılıp berrak bir sıvı haline getirilir. Son olarak 85 °C'de 15-30 saniye ısıtma işlemi (pastörizasyon) tabii tutularak üzüm suyu elde edilir (Gülcü, 2012).

İnsan sağlığını olumlu yönde etkileyen üzüm suyundaki antosiyanin bileşiklerinin kolon kanseri riskini azalttığı düşünülmektedir. Ana bileşenlerinden olan fenolik bileşikler güçlü bir antioksidandır. Üzüm suyu bağışıklık sistemini kuvvetlendirmekte ve kansızlığın tedavisinde etkili bir ürün olmaktadır. İçerdiği fenolik maddeler sayesinde kansere karşı vücudu korumaktadır. Vücuda virüslere karşı direnç kazandırdığı belirlenmiştir (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2006; Vislocky ve Fernandez, 2013).

Yapılan çalışmalara göre meyve suları içerdikleri bileşenleri sebebiyle probiyotik kültürlerin eklenmesi için istenen uygunlukta bir gıda matrisi olabilmektedir (Costa vd., 2013). Bunun yanında meyve suyu ürünleri her yaşta insanın keyifle tükettiği ferahlatıcı lezzet profiliyle probiyotik kültürlerce fonksiyonellik kazandırılması açısından avantajlı üretim mamulleridir. Portakal, karpuz, üzüm, nar, elma gibi çeşitli birçok meyveden elde edilen meyve suları üzerinde probiyotik mikroorganizma ilave çalışmaları yapılmış ve yapılmaya da devam etmektedir.

Bu bilgiler ışığında, sağlık yararı kanıtlanan üzüm suyu ve probiyotik kültürlerin birlikte kullanılmasının insan sağlığına ve tüketici beklentilerine cevap olacağı düşünülmektedir. Böylece, gıda sektöründe “probiyotik bakterilerce zenginleştirilmiş fonksiyonel meyve bazlı içecek” olarak nitelenebilecek fonksiyonel bir ürün, gıda üretim sanayisine kazandırılarak tüketiminin yaygınlaşmasına katkıda bulunması hedeflenmektedir. Bu çalışma kapsamında; probiyotik bakteri ilave edilen üzüm suyu örneklerinin 21 günlük depolama süresi boyunca; çeşitli fizikokimyasal analizleri ve *Lactobacillus fermentum* (CECT 5716) ve *Lactobacillus acidophilus* (DSM 20079) bakterilerinin canlılık seviyesi incelenmiştir.



2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Fonksiyonel Gıdalar

Son yıllarda beslenme ve sağlık kavramları arasındaki doğru orantılı ilişki tüketiciler tarafından fark edilmektedir. Temel gereksinim olan beslenme ihtiyacının giderilmesinin yanında beslenmeyle ilgili hastalıkların iyileştirilmesi ve yaşam kalitesinin artırılması gibi fiziksel ve zihinsel sağlığın iyileşmesine etki göstermekte olan fonksiyonel gıdalara yönelim artmaktadır (Siro, Kápolna, Kápolna B. ve Lugasi, 2008). Fonksiyonel Gıdalar; “vücudun temel besin öğelerine olan ihtiyacı karşılamanın yanı sıra insan fizyolojisi ve metabolik fonksiyonları üzerinde fayda sağlayan, böylelikle hastalık riskini azaltmada ve daha sağlıklı bir yaşam standardına ulaşmada etkinlik gösteren gıdalar veya gıda bileşenleri” olarak tanımlanmaktadır (Taş, 2012).

Fonksiyonel gıdalar; gıdadaki mevcut yararlı bileşenlerden birinin artırılması ile sağlık yararı olan herhangi bir bileşen eklenilmesi ile veyahut gıdanın doğal yapısında bulunan ve olumsuz etki gösteren bir veya birden fazla bileşenin çıkartılmasıyla mükemmel en yakın ürünleri elde etmeye çalışmaktadır. Besinsel lifler, antioksidanlar, fenolik maddeler, probiyotikler ve prebiyotikler, vitaminler, omega-3 yağ asitleri, oligosakkaritler gibi ilavelerle de fonksiyonel hale getirilebilirler. Çizelge 2.1’de fonksiyonel gıdaların sınıflandırılması verilmektedir (Dayısoylu, Gezginç ve Cingöz, 2014).

Çizelge 2.1. Fonksiyonel gıdaların sınıflandırılması

Fonksiyonel Gıdalar	Örnek
Zenginleştirilmiş gıdalar	Probiyotik yoğurt
Bileşeni artırılmış gıdalar	Omega-3 katkılı yumurta
Takviye edilmiş gıdalar	C vitamini ilaveli meyve suları
Değiştirilmiş gıdalar	Yağsız süt

Fonksiyonel gıdalarda aranan nitelikler;

- ✓ Sağlığın korunması ve iyileştirilmesine katkı sağlamalı,
- ✓ Etkinliği bilimsel olarak kanıtlanmış olmalı,
- ✓ Doğal olarak tüketildiği formda olmalı,
- ✓ Normal günlük beslenme planına dahil edilebilen bir gıda olmalı
- ✓ Tüketimi güvenilir olmalı (Alerjik etki göstermemeli),
- ✓ Herhangi bir farmasötik ürün (ilaç, kapsül ve diyet desteği) şeklinde olmamalıdır (Ünal, Fenderya, Ender ve Akalın, 2017).

Türkiye’de fonksiyonel gıda pazarı son yıllarda tüketicilerin sağlıklı beslenmeye olan ilgisinin ve bu konuda farkındalığının artmasının sebebiyle büyük gelişme göstermektedir. 2020 yılına kadar dünyada küresel fonksiyonel gıda pazarının değerinin 305.4 milyar dolara ulaşması beklenmektedir. Dünyada ve ülkemizde en fazla tercih edilen fonksiyonel gıdalar süt ürünleridir. Bu ürünleri meyve suyu ve nektarı, bisküvi ve unlu mamuller, margarin ve soya ürünleri takip etmektedir (Güven, 2018).

Fonksiyonel ürünler grubunda bulunan probiyotik gıdalar, sağlığa yararı kanıtlanmış canlı mikroorganizmaların gıdaya ilave edilmesi yoluyla üretilmektedir. Fonksiyonel gıda ürünlerinin büyük çoğunluğunu (%60-70) probiyotik gıdalar oluşturmaktadır (Akan ve Kınık, 2015). Günümüzde kullanılan probiyotikler insan bağırsak florasında mevcut olan bakterilerdendir. Probiyotikler yoğurtta, fermente sütlerde ve diğer fermente gıdalar içinde doğal olarak mevcuttur. Süt kaynaklı olmayan probiyotikli gıdaların geliştirilmesinde de endüstriyel ve ar-ge çalışmaları açısından önemli faaliyetler yapılmaktadır (Gülbandılar, Okur ve Dönmez, 2017).

2.2. Probiyotikler

2.2.1. Probiyotik Tanımı ve Tarihçesi

Probiyotik terimi, kelime anlamı olarak Yunancadaki “pro” ve “biota” kelimelerinin birleşiminden türetilmiş olup antibiyotiklerin aksine konağın yaşamına elverişli manasındaki “yaşam için” anlamına gelmektedir. 1908 yılında Rus bilim insanı Elie Metchnikoff, mikropların insan sağlığı üzerindeki etkinliğini araştırırken bağırsak florasındaki bakterilerin toksik madde üreterek yaşlanma sürecini hızlandığını öne sürüp günlük olarak yoğurt gibi fermente süt ürünü tüketen Bulgar köylülerinin tüketmeyenlere göre daha uzun süre yaşadıklarını savunmuştur. Böylece bağırsak florasının gıdaya bağlılığı ve florayı

değiştirmenin mümkün olduğunu düşünerek ortaya attığı probiyotik kavramıyla Nobel ödülü almıştır (Özen ve Dinleyici, 2015; Gasbarrini, Bonvicini ve Gramenzi, 2016).

Probiyotiklerin tarihsel tanımlamalarına bakıldığında Ferdinand Vergin tarafından 1954 yılında yayınlanan patojen olmayan mikroorganizmalar ve onların antimikrobiyal etkilerinin anlatıldığı “Anti-und Probiotica” adlı makalede antibiyotiklerin tersi olarak probiyotiklerden bahsedilmiştir (Corthier, 2004; Kandil, 2019). Devam eden 60’lı yıllarda ise Lilly ve Stillwell tarafından mikroorganizmaların çoğalmasını uyaran bileşik olarak bahsedilmiştir. Daha sonrasında 1989 yılında Fuller tarafından bağırsak mikrobiyal dengesini olumlu yönde etkileyerek yarar sağlayan canlı gıda takviyesi olarak tanımlanmıştır (Fuller, 1989). 1996 yılında Schaafsma tarafından ise belirli sayıda tüketildiğinde sağlık yararı gösterebileceğine dair bir ilave yaparak tanımlamayı ilerletmiştir. Literatüre girdiğinden beri birçok tanımlamayla ifade edilerek anlamı yenilenen probiyotiklerin son tanımı ise; Dünya Sağlık Örgütü ve Gıda Tarım Örgütü tarafından “yeterli miktarda alındıklarında insan sağlığı üzerinde yararlı etkileri olan canlı mikroorganizmalar” olarak belirlenmiştir (FAO/WHO, 2002).

Probiyotik mikroorganizmalar tüketildikten sonra gastrointestinal sistem boyunca canlılıklarını koruyup biyolojik etkinliğini bağırsaklarda gelişerek gösteren mikroorganizma kültürleridir (Kanmani, Satish Kumar, Yuvaraj, Paari, Pattukumar ve Arul, 2013). Probiyotik olarak kullanılan bakterilerin kültürleri; bağırsak sistemini güçlendirme, kolon kanseri riskini azaltma, sindirim sistemi kaynaklı hastalıkları önleme, kolesterol seviyesini düşürme, laktoz sindirilebilirliğini arttırma gibi bağırsak rahatsızlıklarına müdahale etme kabiliyetine sahiptirler (Kaya, 2020).

2.2.2 Probiyotik Mikroorganizmalarda Bulunması Gereken Özellikler

Probiyotikler, FDA (Food and Drug Administration-Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından belirlenip onaylanmış olan GRAS (Generally Recognized as Safe – Genellikle Güvenli Olarak Tanınan) statüsünde mikroorganizmalardır. Probiyotik olarak seçilen mikroorganizmalarda aranan özellikler aşağıda belirtildiği şekildedir;

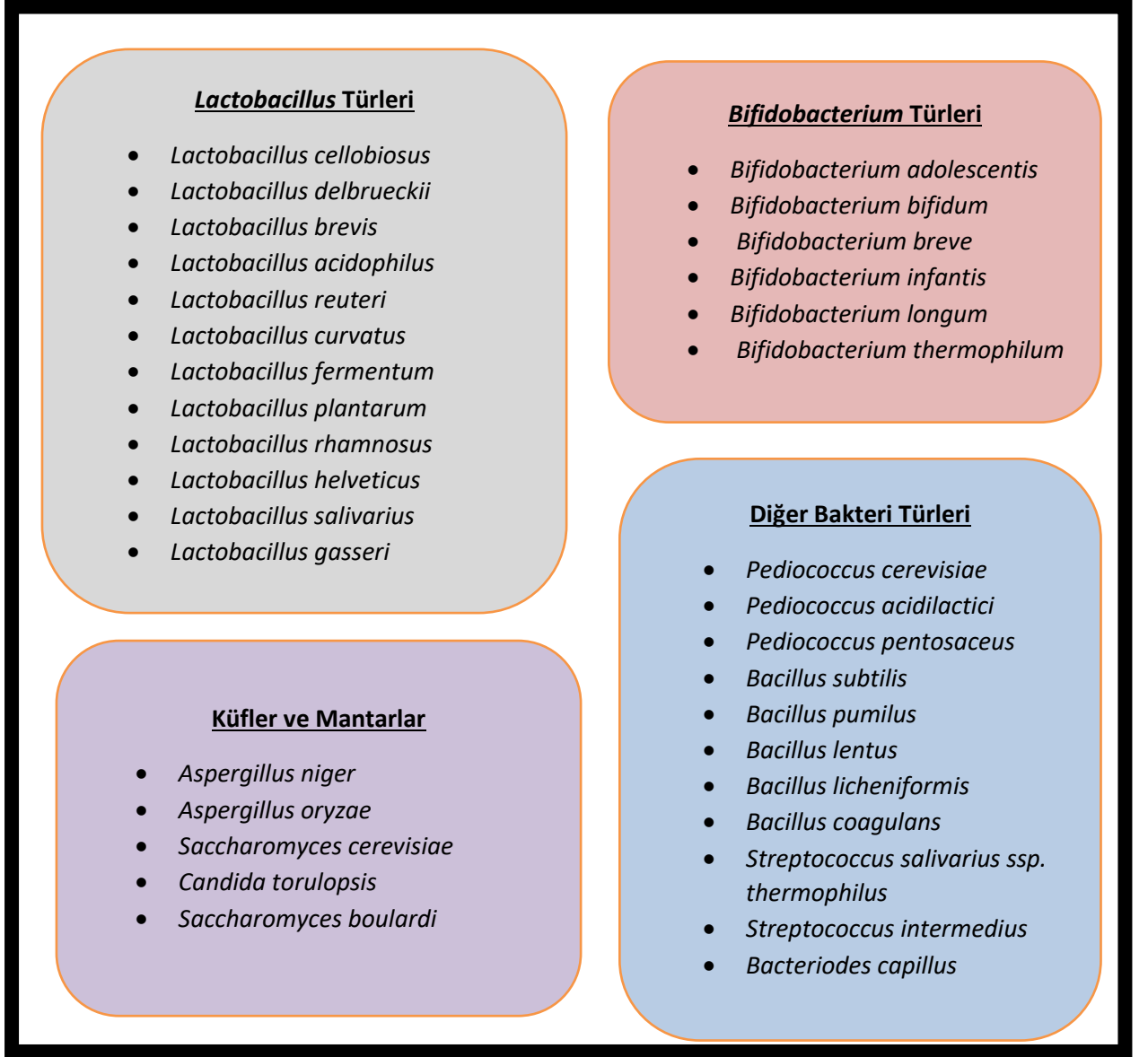
- Antimikrobiyal maddeler üretebilmeli,
- Suşun taksonomik tanımlaması doğru yapılmış olmalı ve patojen bir soya sahip olmamalı,

- Safra tuzları, asit ve düşük pH değeri gibi olumsuz etkilere dirençli olmalı,
- Gastrointestinal sistemde canlılığını sürdürerek bağırsaklara ulaşabilmeli,
- Konakçı için yarar sağlayıp patojen olmamalı,
- Prosesinde kullanılan gıdanın üretim ve depolama serüveni boyunca ürün kalitesini düşürmemeli ve canlılığını sürdürmeli,
- Antibiyotiklere karşı dirençli olmamalı,
- Uzun süre etki gösterebilmesi için konakçı ile uyum sağlayabilmeli,
- Laktaz aktivitesi, kolesterol asimilasyonu, antimikrobiyal madde ve vitamin üretimi gibi metabolik etki gösterme yetkinliğine sahip olmalı,
- Klinik etkinliği ortaya konmuş olmalı,
- Doğal mikroflorayı bozmadan patojen bakterileri etkileyebilmeli,
- Birden fazla probiyotik suşlu preparatların hazırlanmasına uygun olmalıdır (Delikanlı ve Özcan, 2014; Gülbandılar vd., 2017).

Sağlık yararı bilimsel olarak kanıtlanmış probiyotik mikroorganizmalar ticari olarak üretilmekte ve kullanılmaktadır. Uluslararası Probiyotik ve Prebiyotikler Derneğine (ISAPP) göre probiyotik olarak üretilmiş bir ürünün etiketinde belirtilmesi gereken bazı açıklamalar vardır. Mikroorganizma cinsinin ve türünün bilimsel olarak tanımlanmış olması, suşun tayin edilmesi, her suşta bulunan canlı bakteri sayısı, önerilen depolama şartları ve güvenlik durumu, tüketimde oluşabilecek fizyolojik etkileri, belirtilen fizyolojik etkinin sağlanması için gerekli doz ve satış sonrasında üreticiye ulaşabilmek için iletişim bilgileri etikette bulunan açıklamalar arasında yer almaktadır (Gibson vd., 2017).

2.2.3. Probiyotik Gıdalarda Kullanılan Mikroorganizmalar

Probiyotikler, probiyotik aday mikroorganizmaların elde edilmesi ve bu mikroorganizmalar üzerinde yapılan in vivo ve in vitro deneyleri kapsayan bir seri çalışmanın sonucunda belirlenir (Verschuere, Rombaut, Sorgeloos, ve Verstraete, 2000). Sağlık yararı kanıtlanan mikroorganizmaların ticari preparatlarda kullanımı oldukça yaygındır. Probiyotik özelliği taşıyan bazı mikroorganizmalar Şekil 2.1'de (Fijan, 2014) belirtilmiştir.



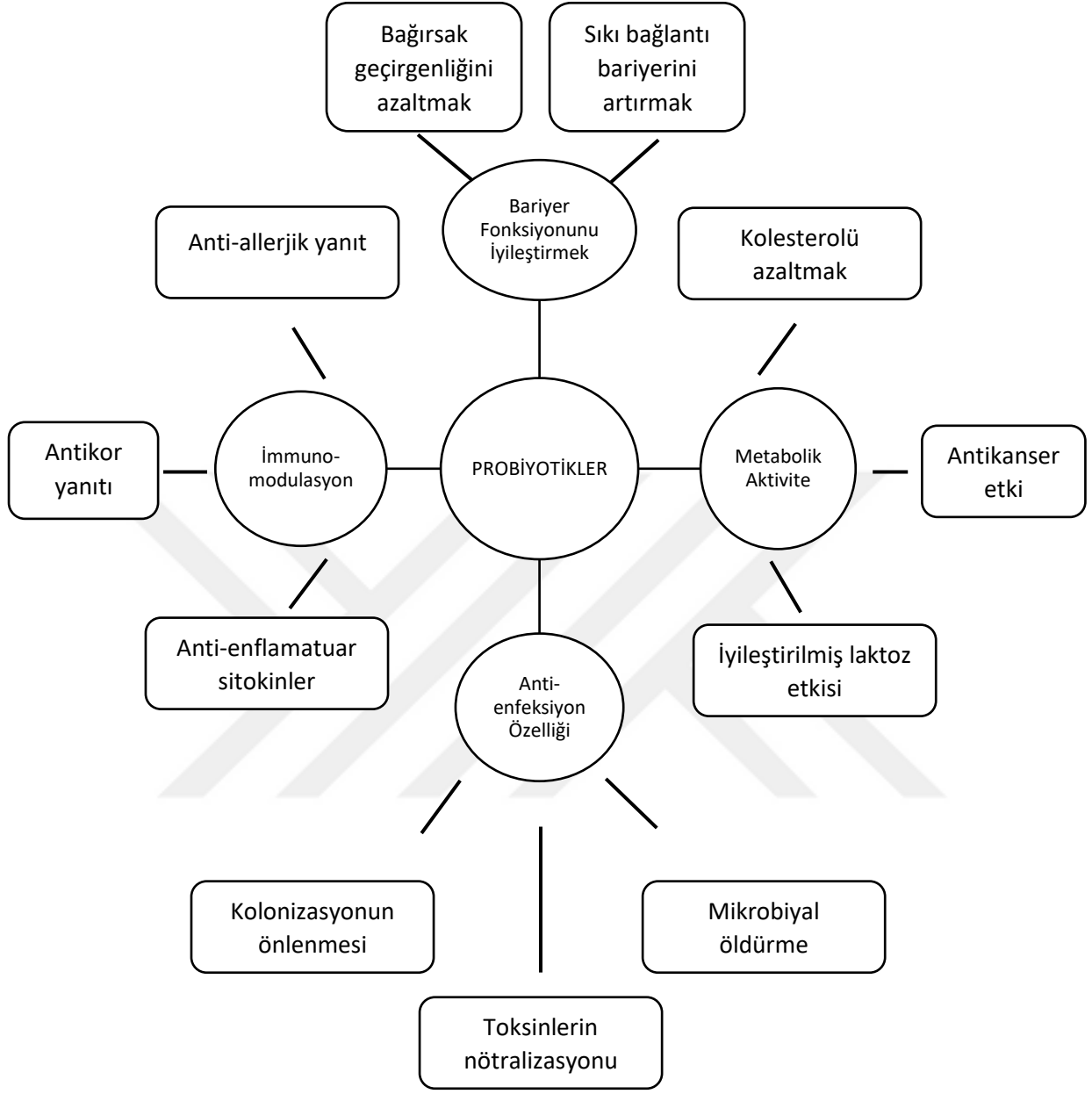
Şekil 2.1. Probiyotik gıdalarda kullanılan mikroorganizma türleri

2.2.4. Probiyotiklerin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri

Probiyotik bakterilerin insan sağlığı üzerindeki yararlı etkilerine işaret eden ve sürekli genişleyen bilimsel çalışmalar gösteriyor ki; laktoz sindirilebilirliğini arttırma, gıdalarla alınan toksik bileşenlerin vücuttan uzaklaştırılması, serum kolestrol ve kan basıncını düşürme, immün sistemin uyarılması ve regülasyonu, antimutajenite, Kalsiyumun mineralinin bağırsaklarda emilim oranını artırır; kemik erimesi (osteoporoz) rahatsızlığını önleme, antikanserojenik, antidiyaretik özellikler, alerjik hastalıklar, obezite tedavisi, insülin direnci varlığı, tip-2 şeker, bağırsak enfeksiyonları, B ve K vitaminlerinin üretimini ve emilimini arttırma, patojenlere karşı inhibisyon, vajinal enfeksiyonlara sebep olan patojen mikroorganizmaların (Candida) gelişimini önleme, bebek ishallerini giderme, iltihaplanmaları giderme gibi birçok hastalığı önleyici ya da tedavi edici özellikleri vardır (Hasler, 2002; Tripathi ve Giri, 2014). Şekil 2.2’de (Saad ve ark., 2013, Delikanlı ve ark., 2014) probiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki etkileri detaylı olarak gösterilmiştir. Probiyotik mikroorganizmaların konağın sağlığını olumlu yönde etkileyebilmesi için konağın bağırsağında kolonize olmaları gerekmektedir (Gülmez ve Güven, 2002; Kutlu, 2011).

Probiyotik mikroorganizmaların etki mekanizmaları;

- Hidrojenperoksit, organik asit ve bakteriyosin gibi inhibe edici madde üretimi
- Mukozanın bariyer fonksiyonlarını güçlendirir ve mukus yapımını uyarır
- Bağırsak pH’sını düşürme
- Sükraz, laktaz, maltaz gibi enzimlerin aktivitesini arttırma
- Kalın bağırsakta kolonize olarak patojen mikroorganizmaların faaliyetlerini engelleme
- Konakçının immün yanıtını IgA üretimini arttırarak değiştirme
- Karsinojenlerin inaktif hale gelmesiyle Apoptoziseyi düzenleme
- Mutajenik ve genotoksik etkileri önleyerek kanser riskini azaltma şeklinde sıralanmıştır (Doğan, 2011; Gülbandılar vd., 2017).



Şekil 2.2. Probiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki etkileri

2.2.5. Probiyotik Miktarları

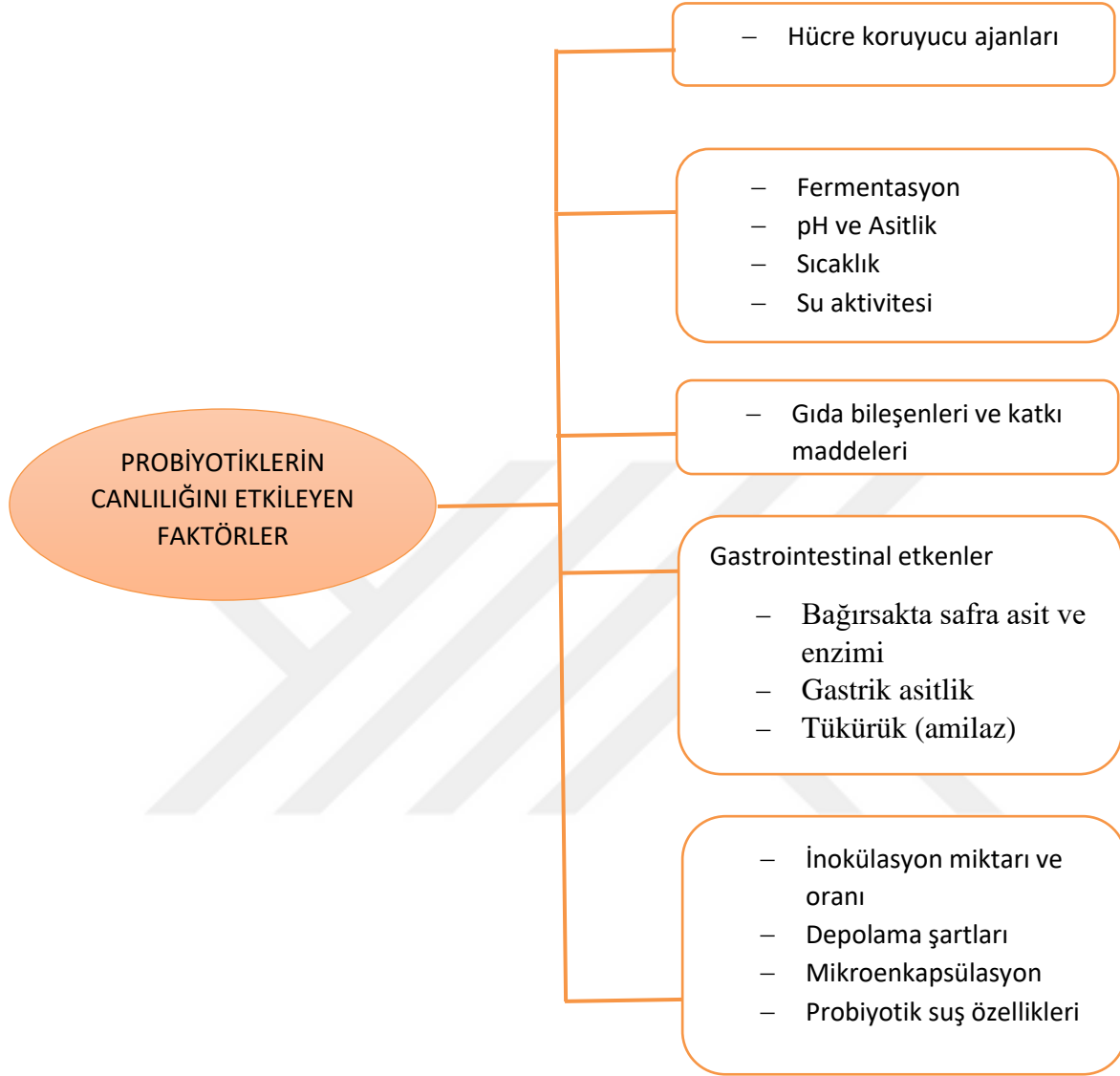
Probiyotik gıdaların vücutta sağlık yararlılığını gösterebilmesi için tüketim anında mevzuatlarda belirlenen minimum canlı mikroorganizmayı içermeleri gerekmektedir. FDA probiyotik ürünlerden vücuda giren probiyotik mikroorganizma miktarının tüketim anında en az 10^6 CFU/ml olmasını tavsiye etmektedir. Probiyotik canlılığı üzerinde sindirim esnasında kaybolan miktar ve depolama şartlarının etkisi göz önünde bulundurulduğunda insan vücudunda probiyotik etkinin görülebilmesi için alınması gereken mevcut miktarın en az 10^8 - 10^9 CFU/ml olması gerektiği belirtilmiştir. Sindirim sistemi içerisine belirtilen 10^9 CFU/ml canlı mikroorganizma geçmesi için günlük 100 gram probiyotik ürün tüketilmesi tavsiye edilmektedir (Karimi, Mortazavian, Cruz, 2011).

“Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği Ek 2” de belirtilen değerlere göre; probiyotik gıdanın içerisinde belirtilen raf ömrü boyunca en az 1.0×10^6 kob/g canlı probiyotik mikroorganizma bulunması gerekir (Anonim, 2017). “Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği’nde” ise eklenen toplam mikroorganizma miktarının en az 10^7 kob/g, etikette belirtilen toplam ilave mikroorganizma miktarının ise 10^6 kob/g olması gerektiği yazmaktadır (Anonim 2009).

2.2.6. Probiyotiklerin Proses ve Depolama Boyunca Canlılığını Etkileyen Faktörler

Probiyotik gıda ürünlerinin sağlık etkinliğini gösterebilmesi için belirtilen miktarlarda canlılığını sürdürmesi çok önemlidir. Proses ve depolama boyunca gıda ürünlerinde probiyotik mikroorganizmaların canlılığını etkileyen birçok faktör belirlenmiştir. Belirlenen bu faktörler 4 başlık altında ele alınabilir; (Amund, 2016; Tripathi ve Giri, 2014)

- Gıda parametreleri; pH, titrasyon asitliği, oksijen varlığı, su aktivitesi, tuz ve şeker oranı, kimyasal maddeler, bakteriyosinler, yapay aroma vericiler ve renk maddeleri
- Proses parametreleri; ısı uygulaması, inkübasyon sıcaklığı, paketlenme materyalleri, depolama yöntemleri
- Mikrobiyolojik parametreler; probiyotik suşları, ilave edilen mikroorganizma miktarı ve oranı
- Biyolojik parametreler; gastrik asitlik, lizozim, bağırsakta safra asit ve enzimi, tükürük (amilaz), patojenler



Şekil 2.3. Probiyotiklerin proses ve depolama boyunca canlılığını etkileyen faktörler

Probiyotik bakterilerin canlılık seviyesi, mikroorganizmanın kimyasal ve fiziksel özellikleri, inokülasyon oranı, depolama sıcaklığı, ürünün asitlik miktarı, su aktivitesi oranı ya da kullanılan ambalaj malzemesinin bakteri ile uyum özellikleri gibi birçok koşula bağlı olarak değişmektedir. Şekil 2.3’de detaylı olarak verilmiştir (Anal ve Singh, 2007; Tripathi ve Giri, 2014). Ayrıca probiyotik mikroorganizmaların insan sağlığı üzerine olan olumlu etkisi probiyotik mikroorganizmanın gastrointestinal sistemden geçerken metabolik ve biyolojik aktivitelerinin kaybedilmemesine de bağlıdır (Tripathi ve Giri, 2014).

2.2.7. Çalışmamızda Kullanılan Probiyotik Mikroorganizmalar

2.2.7.1. *Lactobacillus acidophilus*

L. acidophilus ince bağırsakta bulunur ve yararlı bağırsak organizması olarak gıda biyoproseslerinde kullanılır. Gram pozitif, spor oluşturmeyen, hareketsiz, çubuk şeklinde, anaerob veya fakültatif anaerob ve katalaz negatif bir bakteri türüdür. Laktozu kullanarak yüksek miktarda D(-)-laktik asit üretirler. Genellikle β -galaktosidaz üretirler. (Ray ve Bhunia, 2016). Gelişmesi için en uygun optimum sıcaklık 35-38 °C'dir. Optimum pH aralığı 5.5-6.0 arasındadır.

L. acidophilus; ürettiği organik asitlerden (laktik asit, asetik asit vb.), H₂O₂ ve antibiyotik maddelerden (lactocidin, acidofilin, acidolin ve lactosin B) dolayı antimikrobiyal özelliğe sahiptir. Yararlı enzimler üreten bu mikroorganizmaların hızlı üreme potansiyeline sahip olduğu ve bu sayede baskın konuma gelerek patojen mikroorganizmaların yerleşmelerini önledikleri bilinmektedir. Bu özelliği sayesinde bağırsak florasında oluşan enfeksiyon ve bağırsak hastalıklarına karşı koruma sağlayarak kontrol altına alınabilmekte ve ortaya çıkabilecek olumsuzluklar giderilebilmektedir. *L. acidophilus* mide ve safra asitlerine karşı dirençli olup fekal sınıfındaki *Escherichia coli* suşları ile diğer zararlı bağırsak patojenlerine karşı kuvvetli bir antimikrobiyal etki gösterebilmektedir (Karahancı, 2018).

2.2.7.2. *Lactobacillus fermentum*

L. fermentum, FDA ve Çin Gıda ve İlaç Dairesi (CFDA) tarafından gıdada kullanım için onaylanmış mikroorganizmadır ve kullanımını güvenlidir (Liu, Zhang, Zhou, ve Pan, 2019). *L. fermentum* zorunlu heterofermentatif bir laktik asit bakterisidir. Gram pozitif, spor oluşturmeyen, hareketsiz, çubuk şeklinde, anaerob ve katalaz negatiftir. Genellikle β -galaktosidaz üretirler.

L. fermentum, diğer probiyotik bakterilere kıyasla, antioksidanlar ve kısa zincirli yağ asitleri üretme ve diğer laktobasil türlerinin büyümesini tetikleme gibi bazı özelliklere sahiptir (Manç vd., 2009). *L. fermentum*'un gösterdiği pH ve safra toleransı, sindirim sisteminin stresinden kurtulacak kadar güçlü olması probiyotik olarak değerlendirilmesi açısından önemlidir. Midenin pH'ı 1,5 ile 3 arasındadır ve üst bağırsakta 3-5 g/L⁻¹ safra bulunur. Yapılan çalışmalar *L. fermentum*'un bu koşullarda hayatta kaldığını ve probiyotik olarak hareket edebildiğini kanıtlamıştır (Pan vd., 2011). Bunun yanında kolesterol seviyesini

düşürme ve *L. fermentum*'un antibiyotik direncine sahip olduğu bilinmektedir (Klein ve Günter, 2011).

2.2.8. Probiyotik Gıda Pazarı

Tüketicilerin yaşam koşullarına bağlı olarak, beslenme alışkanlıklarındaki değişimle beraber tükettikleri gıdalardan sağlayacakları beklenti düzeyi de değişim göstermektedir. Tüketiciler, günlük beslenmelerine daha fazla önem ve özen göstererek sağlıklı beslenme konusunda bir hayli bilinçlenmeye başlamışlardır. Gıda sektörü de beklentiyi karşılama konusuna paralel olarak, gıda teknolojisindeki gelişimle birlikte tüketiciler için sağlıklı beslenmeye yönelik çeşitli türde gıdaların üretimine başlamıştır. Probiyotiklerin sağlık yararları üzerine yapılan çalışmaları ve olumlu sonuçları ile birlikte probiyotik gıda pazarı da yükselişe geçmiştir. Probiyotik pazar payının %50'den fazlasını gıda ürünleri, %30-40'ını hazır besin takviyeleri ve %10'unu farmasötik alan (ilaçlar) oluşturmaktadır (Bansal, Mangal, Sharma ve Gupta, 2016). 2001-2006 yılları arasında Amerika'da süt kaynaklı probiyotikler pazar payının %90'ını oluştururken bu durum 2012 yılında %63'e düşmüştür. Çünkü bitkisel kaynaklı probiyotik ürünler artışa geçerek pazar payına %36'lık yeni bir ivme kazandırmıştır (Soyuçok ve Kılıç, 2017). Genel olarak küresel probiyotik pazarının 2018 yılının rakamları göz önüne alındığında ise değerinin 45.6 milyar dolar olduğu, 2024 yılında ise bu değer 65 milyar dolara (Global Market Insights) ulaşacağı tahmin edilmektedir (Şengün, Kırmızıgül, Özaydın ve Yarım, 2020).

2.2.9. Probiyotik Mikroorganizmaların Bitkisel Gıdalarda Kullanım Avantajları

Probiyotiklerin büyük çoğunluğunu süt ürünleri (fermente sütler, yoğurt, dondurma, peynir çeşitleri, peynir altı suyu içeren içecekler vb.) oluşturmaktadır. Süt ürünleri, probiyotik bakteriler için temel taşıyıcı görevi görmesine rağmen, insan nüfusunun belirli bir kısmının süt alerjisi, laktoz intoleransı ve hayvan proteini kullanımını kısıtlayan diyetlere bağlı olarak bu ürünleri tüketemediği bilinmektedir (Shori, 2016). Orta yaşlardaki yetişkinlerin %75'inde laktaz aktivitesi azalmakta ve laktoz intoleransına sahip bireylere süt ürünleri kullanımı dezavantaj oluşturmaktadır. Süt ürünlerine alternatif olarak bitkisel gıdalarda probiyotik mikroorganizmalar için ideal bir gıda ortamı oluşturma özelliği göstermektedir. Probiyotiklerin kullanımı ile ilgili tahıl içeren gıdalarda, meyve sularında, soya bazlı ürünlerde, kahvaltılık gevreklerde ve bebeklere yönelik gıdalarda çalışmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmuştur. Meyve ve sebzelerin zengin besin içeriği (diyet lifi,

karbonhidratlar, vitamin ve mineraller ve polifenoller vb.) ve süt alerjisi içermemesi sebebiyle kullanımı avantajlıdır. Ayrıca polisakkaritlerce zengin oluşu probiyotiklerin gelişimi için uygun bir ortam sağlayacağını düşündürmektedir (Göral ve Gündüz, 2018).

2.2.10. Meyve Bazlı Probiyotik Gıdalar

Meyveler, besin değerinin yüksek olması ve içeriğindeki faydalı besin öğeleri sayesinde probiyotiklerin eklenmesiyle ilgili birçok çalışmaya konu olmuştur. Özellikle portakal, elma, üzüm, ananas, mango suyu gibi çok çeşitli meyve suyu ürünlerinin probiyotiklerle zenginleştirilmesi ve probiyotik bakterilerin canlılığının araştırılması amacıyla denemeler yapılmıştır.

Oruç ve Çakır (2019), çalışmalarında *L. helveticus* NRRL B-4526, *L. acidophilus* KPb4b ve *L. plantarum* şuşlarını ilave ederek fermente ettikleri taze sıkılmış karpuz suyundan yeni bir probiyotikli içecek üretmeyi amaçlamışlardır. Karpuz suları 37 °C'de 18 saat fermantasyona bırakılmıştır. Fermantasyon süresi boyunca örneklerde, toplam laktik asit bakterisi canlılığı, % titrasyon asitliği, toplam fenolik madde miktarı, pH ve suda çözünür kuru madde analizleri yapılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, laktik asit bakterisi sayılarının tüm örneklerde önemli ölçüde arttığı, en yüksek sayının 10,0 log kob/mL ile *L. plantarum* ile fermente edilen üzüm suyu örneğinde olduğu belirlenmiştir. Yapılan duyu analizi sonuçlarında da *L. plantarum* ilave edilmiş karpuz suyu örneği beğenilmiştir.

Miranda vd. (2019)'da, yaptıkları çalışmada portakal suyuna probiyotik ilave yöntemlerinin kalite parametreleri üzerine etkisini araştırmışlardır. *Lactobacillus casei*; direkt olarak, yama yöntemiyle aktifleştirilmiş olarak ve aljinatla kapsüllenmiş olarak 3 farklı şekilde portakal suyu örneklerine ilave edilmiştir. Portakal suyu örnekleri 7 °C'de 28 gün boyunca depolanmış ve haftalık olarak fiziksel özellikleri, kimyasal özellikleri ve bakteri canlılığı değerlendirilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre ticari kültürün direkt olarak eklenmesinin en uygun yöntem olduğu ve 10⁶ CFU/mL üzerinde bakteri canlılığı göstererek saf ürünün fiziksel ve kimyasal özelliklerine benzer sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

Yapar (2013), yaptığı çalışmada toplam 20 adet geleneksel olarak fermente edilmiş gilaburu suyu örneğinden laktik asit bakterilerini izole ederek PCR testiyle genotipik olarak tanımlamıştır. Probiyotik gilaburu suyu üretmek için seçilen 3 çeşit LAB kültürü (*L. casei* 20a, *L. brevis* 15a ve *L. plantarum* 19e) kullanılmıştır. Geleneksel yöntemlerle fermente edilmiş ve probiyotik bakteri ilave edilmiş gilaburu örneklerinin biyoaktivite değerlerinin

yüksek olduğu ve duyusal değerlendirmelerde panelistler tarafından beğenildiği saptanmıştır. Bu örneklerin laktik asit bakteri sayılarının 3,92-8,44 log kob/ml arasında değiştiği kaydedilmiştir.

Amanda ve Choo (2018), karpuz suyuna *L. plantarum* ilave ederek 37 °C'de 6 saat fermentasyona tabi tutularak probiyotik bir içecek üretimi amaçlanmıştır. Karpuz suyu örneklerini aynı zamanda prebiyotik bileşen (inülin ve früktooligosakkarit) ilave edilen ve edilmeyen olarak sınıflandırmışlardır. Karpuz suları fermentasyondan önce pastörize edilmiştir. Elde edilen içeceğin buzdolabı sıcaklığında (4 °C) 14 günlük depolanması sonucunda ürünün fizikokimyasal özelliklerindeki ve *L. plantarum* suşunun canlılık seviyesindeki değişiklikler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar depolama boyunca prebiyotik ilave edilen ve edilmeyen fermente karpuz sularının her ikisinde de *L. plantarum* bakterisinin canlılık düzeyinin 11 log kob/mL olduğunu belirlemişlerdir.

Mousavi ve ark. (2011), nar suyuna 4 çeşit laktik asit bakterisini; *L. plantarum*, *L. delbrueckii*, *L. paracasei*, *L. acidophilus* ilave ederek 30 °C'de 72 saat fermentasyona bırakarak probiyotik bir ürün geliştirmeyi amaçlamışlardır. Nar suyu örneklerini 4 °C'de 4 hafta boyunca depolamışlardır. Nar suyunda haftalık olarak bakteri canlılık seviyelerini, fiziksel ve kimyasal özelliklerini gözlemlemişlerdir. *L. plantarum* ve *L. delbrueckii* suşları, depolama süresi boyunca diğer bakterilerden daha yüksek canlılık göstermiştir. Canlı hücreler 2 hafta içinde maksimum seviyelerine ulaşmıştır ancak depolama sonunda önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda nar suyunun, fermente edilmiş probiyotik bir içeceğin üretimi için uygun bir ortam olduğu kanıtlanmıştır.

Reddy ve ark. (2015), mango suyunun probiyotiklendirilmesi işlemini *L. acidophilus* (MTCC10307), *L. delbrueckii* (MTCC911), *L. plantarum* (MTCC9511) ve *L. casei* bakterileri ile yapmışlardır. Mango suyu 30 °C'de 72 saat mikroaerofilik koşullarda fermente edilmiştir. Mango suyu örnekleri 4 °C'de 4 hafta boyunca depolanarak mikrobiyal popülasyon, pH, titre edilebilir asitlik, şeker ve organik asit metabolizması ölçülerek suşların canlılığı incelenmiştir. Depolama sonucunda; en yüksek canlılık değerleri *L. acidophilus* ve *L. plantarum*'da gözlemlenmiştir. Canlı hücre sayıları soğuk depolama sırasında biraz azalmasına rağmen iki laktik asit bakterisinin hücre canlılığı 10⁶ CFU / ml olarak kaydedilmiştir.

Pakbin ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada şeftalinin laktik asit bakterileri tarafından probiyotik şeftali suyu üretimine hammadde olarak uygunluğunu araştırmışlardır. Şeftali

suyuna *L. delbrueckii* ve *L. casei* bakterilerini 30 °C’de 48 saat fermente ederek ilave ettiler. 4 °C’de 4 haftalık soğuk depolama sırasında fermente şeftali suyundaki laktik asit bakterinin canlılığı takip edildi. Başlangıçta 10×10^9 CFU/mL olan bakteri sayılarının depolama sonunda *L. casei* örneklerinde canlılığın devam etmediğini, *L. delbrueckii*’de ise canlılık düzeyinin $1,72 \times 10^7$ CFU/mL değerinde olduğu tespit edilmiştir. *L. delbrueckii*’nin probiyotik şeftali suyu üretimine uygun olduğu kanıtlanmıştır.

Genç (2016), farklı gıdalardan izole edilen ve tannaz enzimi aktivitesi yüksek 6 çeşit laktik asit bakterisinin probiyotik özelliklerini belirlemeye çalışmışlardır. Probiyotik özellikleri belirlenen laktik asit bakterileri, nar suyu içerisine ilave edilmiş ve tanen miktarı azaltılmaya çalışılarak normal düzeyinden daha lezzetli, probiyotik meyve suyu elde edilmeye çalışılmıştır. Yapılan duyu analizlerde *L. plantarum* A4 suşunun diğerlerine göre daha az burukluk hissi verdiği tespit edilmiştir. Nar suyuna ilave edilen probiyotik bakteriler düşük pH değerinde canlı kalmalarına rağmen nar suyu içinde 48 saat içerisinde canlılıklarını sürdürememiştir. Çalışma sonunda probiyotik ilaveli bir nar suyu elde edilememiştir.

Malganji vd., (2016), pastörize üzüm suyuna *L. plantarum*, *L. delbrueckii* ve *L. rhamnosus* olmak üzere üç farklı *Lactobacillus* türü bakteriyi inoküle etmişlerdir. Buzdolabı sıcaklığında 4 haftalık depolama süresince ilave edilen bakteri türlerinin canlılık seviyelerini ve üzüm suyu örneklerinin duyu özelliklerini incelemişlerdir. 4 haftalık depolama sonunda *L. plantarum* 10^6 kob/ml, *L. delbrueckii* 10^7 kob/ml ve *L. rhamnosus* 10^8 kob/ml düzeylerinde canlılığını sürdürmüştür. *L. rhamnosus* inoküle edilen üzüm suyunun duyu testlerde toplam kabul edilebilirlik düzeyi bakımından *L. delbrueckii* ve *L. rhamnosus* ilave edilmiş üzüm suyu örneklerinden daha fazla puan almıştır.

Mokhtari ve ark. (2019), pastörize üzüm suyuna *L. acidophilus* ve *B. bifidum* probiyotik bakterilerini aljinat ile kapsüllenmiş ve serbest halde olmak üzere 2 şekilde ilave ederek bir meyve suyunun yeni bir alternatif fonksiyonel gıda olarak uygunluğunu değerlendirmişlerdir. Üzüm suyu örnekleri 4 °C’de 60 gün boyunca depolanmıştır. Örneklerin 60. gününde, kapsüllenmiş *L. acidophilus* bakterisinin canlılık seviyesi 8,67 log kob/mL iken serbest haldeki *L. acidophilus*’un canlılık seviyesi ise 7,57 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Kapsüllenmiş *B. bifidum* bakterisinin canlılık seviyesi 8,27 log kob/mL iken serbest haldeki *B. Bifidum*’un canlılık seviyesi ise 7,53 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Depolama süresinin sonunda kapsüllenmiş bakterilerin canlılığının serbest haldeki bakterilerden önemli ölçüde yüksek olduğu gözlenmiştir.

Totonchi ve ark. (2015), *L. acidophilus* LA-5 ve *L. casei* 431'in buzdolabında (+4°C) 4 hafta süreyle saklanması sırasında kırmızı üzüm suyundaki canlılığını araştırmışlardır. Depolama boyunca bakterilerin hayatta kalması, çözünür kuru madde, titrasyon asitliği, pH ve toplam şeker içerikleri ölçülmüştür. Depolama sonucunda; *L. acidophilus*'un canlı hücre sayısı $2,1 \times 10^8$ cfu/mL kaydedilirken *L. casei*'nin düşük pH ve yüksek asitlik koşullarına uyum sağlayamayıp 5×10^4 cfu/mL değerine düştüğü gözlenmiştir. Kırmızı üzüm suyunda, *L. casei* ile *L. acidophilus* karşılaştırıldığında probiyotik meyve suyu üretimi için *L. acidophilus*'un daha elverişli olacağı sonucuna varılmıştır.

Silva ve Ferrari (2016), yaptıkları çalışmada üzüm suyuna *L. paracasei* ilavesi ile probiyotik bir içecek geliştirmeyi ve prebiyotik olarak inülin ilavesinin etkisini araştırmayı amaçlamışlardır. Üzüm suyuna %10 (w/v) oranında inülin ilave edilmiş ve sadece *L. paracasei* ilave edilmiş 2 formülasyon 4 °C'de 28 gün boyunca bakteri canlılığı, pH ve brix analizlerine tabi tutulmuştur. Bu süreçte pH değerleri saf üzüm suyu değerlerinden önemli farklılık göstermemiştir. Brix değeri ise inülin içeren üzüm suyunda istatistiksel olarak daha yüksek değerlerde gözlenmiştir. Hücre canlılığı, 14 günde yaklaşık 3 log cfu/mL azalmış ve 28. gün sonunda yaklaşık 6 log cfu/mL miktarda kalmıştır. Üzüm suyunun probiyotik *L. paracasei* içeren bir içeceğin üretimi için elverişli bir matriks olduğu, ancak inülin kullanılan örneklerde hücre canlılığını etkileyen bir durum olmadığı gözlenmiştir.

Nematollahi (2016), yaptığı çalışmada kıvılcık suyuna 3 çeşit probiyotik bakteri çeşidi; *L. rhamnosus*, *L. plantarum* ve *L. casei* ilave ederek soğuk depolamanın (4 °C) bakteri seviyelerindeki etkisini incelemiştir. pH 2,5 değerine ayarlanan kıvılcık suyunda depolamanın 7. gününe kadar tüm probiyotik bakterilerin canlılığını kaybettiği gözlenmiştir. pH 3,5 değerine ayarlandığında ise *L. rhamnosus* ve *L. plantarum* suşlarının canlılığı, başlangıçtaki 8,0 log cfu/mL değerinden 7 gün sonra sırasıyla 4,24 ve 4,20 log cfu/mL'ye düşmüştür. 21 gün sonunda ise *L. rhamnosus* suşu canlılığını tamamen kaybetmiştir. *L. casei* bakterisi ise depolama boyunca canlılığını korumakla kalmayıp önemli ölçüde arttırmıştır ($p < 0.05$).

2.3. Üzüm

2.3.1. Üzüm ve Üzüm Üretimi

Tarihçesi M.Ö. 5000 yılına kadar dayanan üzüm; Vitaceae familyasının Vitis cinsinin kültürü devam ettirilen en eski meyve türü olarak bilinmektedir. Anavatanı Kafkasya ve Anadolu'ya dayanan üzüm 15000'in üzerinde çeşidiyle meyveler içinde en çok çeşide sahip olan türdür (Anonim, 2011). Ülkemizde Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından, Türkiye de asma ve üzüm genetik kaynaklarının muhafazasından sorumlu olan Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü tarafından 1965 yılında başlanan "Türkiye Asma Genetik Kaynaklarının Belirlenmesi, Muhafazası ve Tanımlanması Üzerinde Araştırmalar" isimli proje ile uzun süren çalışmalar sonucunda "Milli Koleksiyon Bağı" kurulmuştur. Türkiye'nin tamamı taranarak yaklaşık 1.439 yerli ve 93 yabancı orjinli olmak üzere toplam 1.532 üzüm genotipi Milli Koleksiyon Bağı'na aktarılıp koruma altına alınmıştır (Anonim, 2019).



Dünya Gıda Örgütü'nün (FAO) verilerine göre; 2018 yılında 7,2 milyon ha alanda üzüm üretildiği belirtilmiştir. Türkiye alan bakımından yaklaşık 417 bin ha ve %6'lık oran ile İspanya (%16), Çin (%11), Fransa (%11) ve İtalya'dan (%9) sonra 5. sırada yer almaktadır. Türkiye'yi ABD (%5) ve Arjantin (%3) takip etmektedir. Türkiye üzüm üretimi TÜİK 2018 yılı verilerine göre 3,9 milyon ton olup bu üretimin büyük çoğunluğunu 1.9 milyon ton ile sofralık (%49), 1.5 milyon ton ile kurutmalık (%39) ve 464 bin ton ile şaraplık-şıralık (%12) sınıfı oluşturmaktadır. 2019 yılı üretimi ise 4.1 milyon ton olup bu üretimin 2.1 milyon tonu sofralık (%50), 1.6 milyon tonu kurutmalık (%39) ve 451 bin tonu şaraplık-şıralık (%11) olarak gerçekleşmiştir (Anonim, 2019).

Üzüm; sofralık, şaraplık ve kurutmalık olarak değerlendirilmesinin dışında üzüm suyu ve alkol üretiminde kullanılmak üzere değerlendirilmektedir. Coğrafi konumu açısından Türkiye; her çeşit üzümün yetiştirilebilmesi için elverişli bir iklim ekolojisine sahiptir. Bu nedenle, çok eski bir bağcılık kültürüne ve asmanın zengin bir gen potansiyeline sahip oluşunun da etkisiyle bütün bölgelerinde bağcılık yapılarak dünyanın her bölgesine yayılan bir coğrafyadadır. Elde edilen üzüm meyvesi taze tüketimlik, kurutmalık, şaraplık olarak değerlendirilmekte ve meyve suyuna da işlenmektedir (Çelik, Kunter, Söylemezoğlu, Boz, Özer ve Atak, 2005).

Üzüm suyunun kimyasal özellikleri, besin değeri ve kimyasal bileşimi; üzüm çeşidine, iklim koşullarına, olgunluk düzeyine ve üretim sürecine bağlıdır. Tüketicinin beğenebileceği iyi kalitede üzüm suyu üretebilmek için üzüm taneleri olgun, sağlam ve yenilebilir nitelikte olmalıdır. Üzüm tanesi ağırlığının %75-85'i meyve eti, %15-20'si kabuk ve geri kalan kısmı çekirdekten oluşmaktadır (Gülcü, 2008).

2.3.2. Üzüm Suyu

Ülkemizde elde edilen üzümlerden üretilen üzüm suyu oranı az olmasına rağmen, bilinçli tüketim oranlarının artmasıyla ilişkili olarak %100 doğal meyve sularına talep artmıştır. Buna bağlı olarak da üzüm suyu üretim sektöründe hareketlilik başlamıştır (Dıblan, 2013). Meyve suyu ürünlerinin tat dağılımından kaynaklı dağılımı incelendiğinde üzüm suyunun tüketim oranı %8,13'tür (Ekşi ve Akdağ, 2008).

Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler Tebliği'nde meyve suyu; "sağlam, olgun, taze veya soğukta ya da dondurularak muhafaza edilmiş, tek meyvenin veya daha fazla meyve karışımının yenilebilir kısımlarından elde edilen, elde edildiği meyve ve meyvelerin karakteristik renk, aroma ve tadına sahip, fermente olmamış ancak fermente olabilen ürün olarak tanımlanmaktadır" (Anonim, 2014).

Üzüm suyunun üretimine üzüm suyuna işlenecek üzümlerin yıkanması ve sap çıkartmasıyla başlanır. Ardından presleme ve filtrasyon işlemleriyle tüm parçacıklar uzaklaştırılıp berrak bir sıvı haline getirilir. Son olarak 85 °C'de 15-30 saniye ısıtma işlemi (pastörizasyon) tabii tutularak üzüm suyu elde edilir (Gülcü, 2012).

Üzüm meyvesinden elde edilen şıranın bileşiminde; %70–80 su, %15–25 karbonhidratlar (glikoz, fruktoz, pentoz ve pektin) bulunur. Karbonhidrat miktarı sudan sonra üzüm suyunda en çok bulunan bileşiktir. Glikoz/Fruktoz oranı ortalama 0,92-0,95 g/L düzeyindedir. Sakaroz miktarı ise enzimatik hidrolize uğrayıp glikoz ve früktoza parçalanmasından dolayı 1,3 g/L değerindedir. Üzüm suyundaki en önemli asitler %0,3–1,5 oranındaki malik asit ve tartarik asittir. Bu asitler, üzüm suyundaki toplam asidin %90'ından daha fazlasını kapsar. Üzüm suyu pH'sı bileşimindeki organik asitler sayesinde değeri 3,3-3,8 civarındadır. %0,01–0,1 tanenler, önemli miktarda azotlu bileşikler; %0,03–0,17 (protein, aminoasitler ve amonyak) ve %0,3–0,5 mineral bileşiklerden (magnezyum, demir, bakır vb.) oluşmaktadır (Gülcü, 2008; Kocabey, 2013). Bunun yanında, üzüm meyvesinde sodyum, potasyum, kalsiyum ve magnezyum gibi mineraller bulunur (Cemeroğlu vd. 2009). Üzüm

suyunda bulunan en önemli vitamin askorbik asittir, az miktarda da beta karoten bulunur. Tüm bileşen içeriğine bakıldığında üzüm suyu besin ögesi bakımından oldukça zengin ve faydalı bir içecektir (Gülcü, 2008).

2.3.3. Üzüm Suyunun Sağlık Yararları

Üzümün ana bileşenlerinden olan fenolik bileşikler güçlü bir antioksidandır. Fenolik bileşiklerin çeşitli mekanizmalar aracılığı ile vücudu koruduğu ve insan bağışıklık sisteminin daha aktif bir şekilde çalışmasını sağladığı bilinmektedir. Polifenollerin kardiyovasküler hastalıklarına karşı vücudu koruduğu ve kötü kolesterolün düşmesine yardımcı olduğu bilinmektedir. Vislocky ve Fernandez (2013), yaptıkları bir çalışmada üzümün ve üzüm suyunun sağlık yararlarını incelemişlerdir ve günlük olarak 500 mL üzüm suyunun ya da 165-200 g üzüm tüketiminin yetişkinlerde kalp sağlığını koruduğunu ve LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein)'yi düşürdüğünü bildirmişlerdir.

İnsan sağlığını olumlu yönde etkileyen üzüm suyunun antosiyanin pigmentlerinin kolon kanseri riskini azalttığı düşünülmektedir. Üzüm suyu bağışıklık sistemini kuvvetlendirmekte ve kansızlığın tedavisinde etkili olmaktadır. İçerdiği fenolik maddeler sayesinde kansere karşı vücudu korumaktadır. Vücuda virüslere karşı direnç kazandırdığı düşünülmektedir (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2006; Vislocky ve Fernandez, 2013). Probiyotikli üzüm suyunun sağlık yararları Şekil 2.4 'de (Hasler, 2002; Tripathi ve Giri, 2014; Saad ve ark., 2013; Delikanlı ve ark., 2014) detaylı olarak verilmiştir.

Probiyotikler

Üzüm suyu



Şekil 2.4. Probiyotikli üzüm suyunun sağlık yararları

2.3.4. Üzüm Suyu Üretimi

Üzüm suyunda kullanılacak olan üzüm taneleri için son üründe standart asit-şeker dengesinin sağlayan olgunluk indisi oranı (Briks/Asitlik) 20–30 arasında olan ve fiziksel olarak sağlam taneler seçilir. Üzüm bağından hasat edilen üzümler yıkama makinesinde yıkayıp temizlendikten sonra sap ayırma makinesi yardımıyla sapları ayrılır. Beyaz üzüm işleniyorsa, temizlenen tanelerin ezilmesiyle elde edilen mayşe, doğrudan şırası alınmak üzere prese gönderilir. Siyah üzümde ise elde edilen



üzüm taneleri ezilip patlatıldıktan sonra oluşan mayşeye ısı işlem uygulanır. 50 °C’de 1 saat kabuk renginin şıraya geçmesi için bekletilir. Burada amaç; üzümün etli ve kabuk kısmındaki ile çekirdeklerindeki, başta renk-aroma maddeleriyle, sağlık açısından etkili olan fenolik bileşiklerin şıraya geçmesini sağlamaktır. Ardından balonlu preste preslenerek şıra tortusunun çökmesi için bir gece dik tankta bekletilir. Üstte kalan tortusuz şıra -2 °C’de tutulup

detartarizasyonla tartarik asidin tartarat tuzları şeklinde kristalizasyonu sağlanır. Oluşan kristal yapının %90'ına yakın kısmı ince plakalı filtreler yardımıyla uzaklaştırılır. Oluşan üzüm suyu şişelendikten sonra 85 °C'de 15-30 saniye ısıı işleme (pastörizasyon) tabi tutulur.

Üzüm suyuna herhangi bir patojen mikroorganizma bulaşma riskini engellemek için en uygun dolum şekli "sıcak dolum" yapmaktır. Sıcak dolum prosesi bulunmayan üretim fabrikalarında, tüm proses tamamlandıktan (şişelenme ve kapak kapama) sonra şişede pastörizasyon işlemi de uygulanmalıdır (Gülcü, 2012).



3. MATERYAL VE METOD

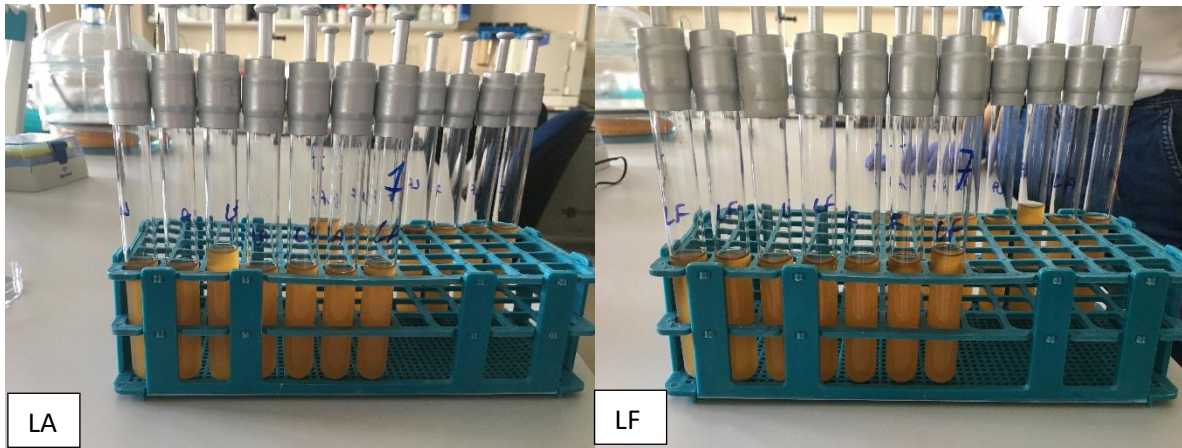
3.1. MATERYAL

Konya Selçuk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 ve *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 temin edilmiştir. Ticari olarak temin edilen MRS Agar (pronadisa) ve MRS Broth (merck) kullanılmıştır.

3.2. METOD

3.2.1. Üzüm Suyu Üretiminde Kullanılan Kültürlerin Aktive Edilmesi

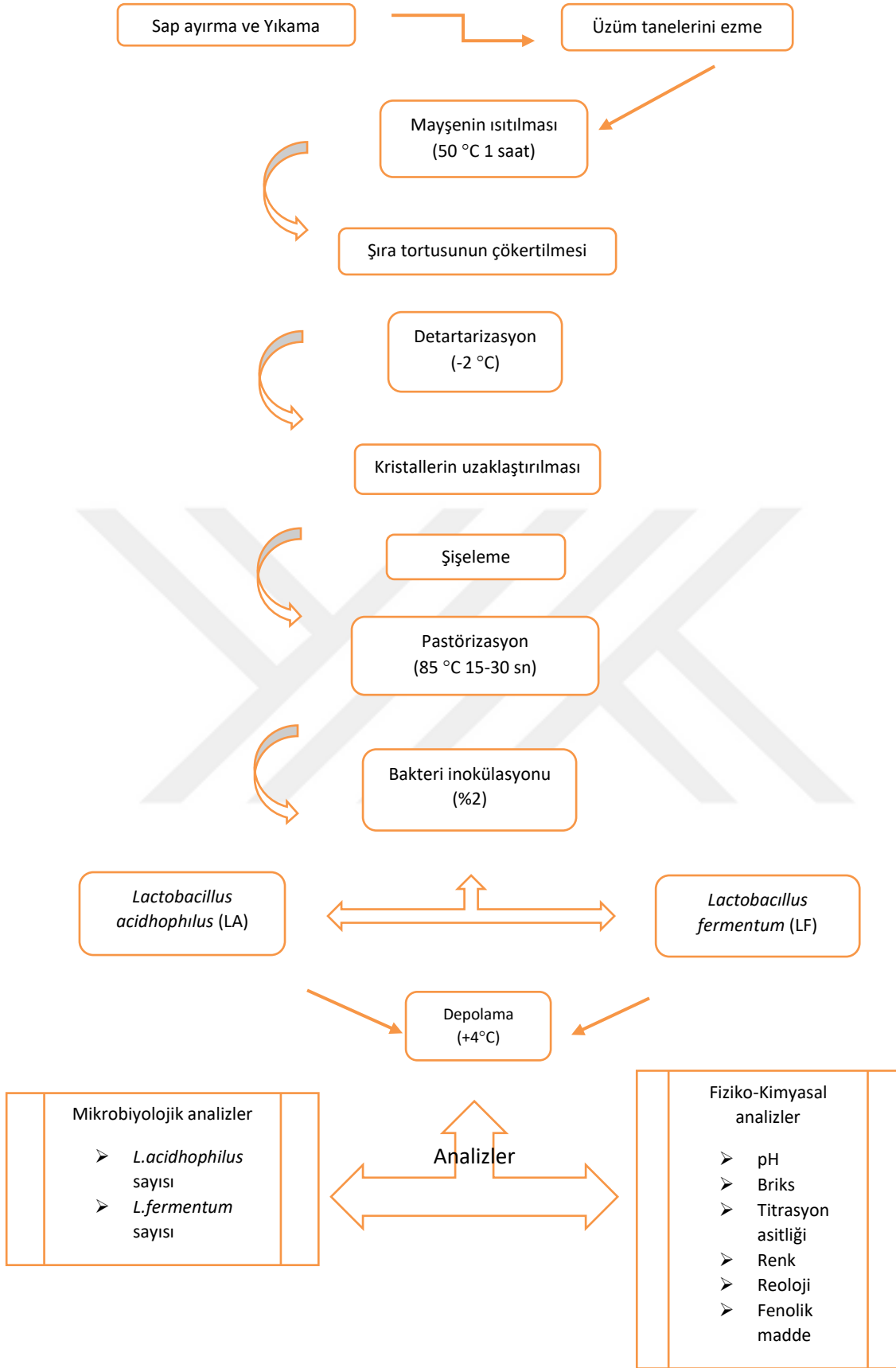
Stok olarak dondurulmuş laktik asit bakteri kültürleri; *L. fermentum* ve *L. acidophilus* steril ortamda önceden hazırlanmış 10'ar mL'lik MRS Broth besiyerlerine otomatik pipet yardımıyla 0,1'er ml inoküle edilip vortekslenmiştir. 37 °C sıcaklığa ayarlanmış etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında koloni sayısına bakılmıştır. MRS Broth da aktive edilen probiyotik bakterilerin görünüşleri Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. MRS Broth besiyerlerinde aktive edilen probiyotik bakteriler

3.2.2. Üzüm Suyu Üretim Prosesi

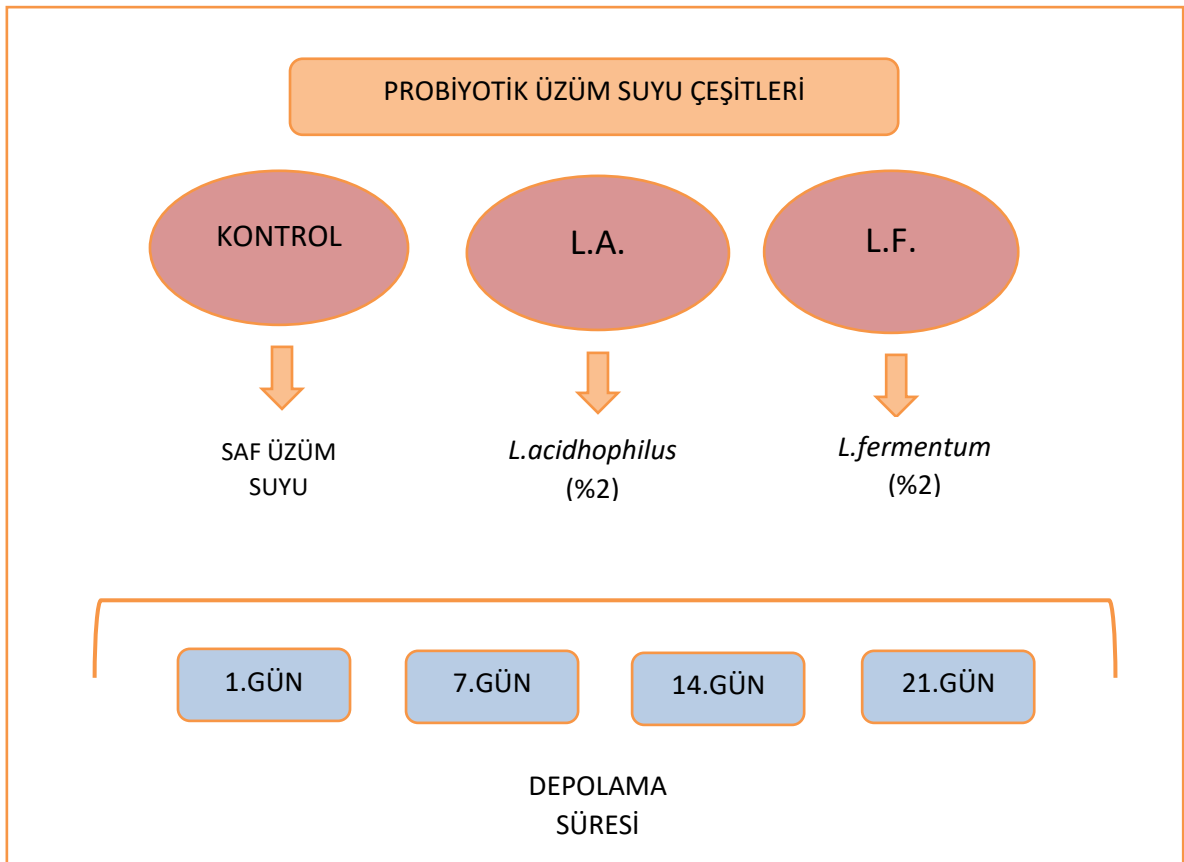
Probiyotikli üzüm suyu üretimi T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsünde yapılmıştır. Üzüm suyu üretiminde Marmara bölgesinde yetiştirilen üzüm çeşitlerinden kullanıldı. Hazırlanan üzüm sularında %30 Cabarnet sauvignon ve %70 Hamburg misket çeşitleri kullanıldı. Üzüm bağından hasat edilen üzümler önce yıkama makinesinde yıkandıktan sonra sap ayırma makinesi yardımıyla sapları ayrıldı. Elde edilen üzüm taneleri ezilip patlatıldıktan sonra oluşan mayşeye ısı işlem uygulandı. 50°C'de 1 saat kabuk renginin ve fenolik madde içeriğinin şıraya geçmesi için bekletildi. Ardından balonlu preste preslenerek şıra tortusunun çökmesi için bir gece dik tankta bekletildi. Üstte kalan tortusuz şıra -2 °C'de tutulup detartarizasyonla tartarik asidin tartarat tuzları şeklinde kristalizasyonu sağlanmış oldu. Oluşan kristal yapının %90'ına yakın kısmı ince plakalı filtreler yardımıyla uzaklaştırıldı. Elde edilen üzüm suyu şişelendikten sonra 85 °C'de 15-30 saniye ısı işlemi (pastörizasyon) tabi tutuldu. Probiyotik üzüm suyu üretim akış şeması Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Probiyotik üzüm suyu üretimi

3.2.3. Probiyotik Bakterilerin Üzüm Suyuna İlavesi

Lactobasillus fermentum CECT 5716 ve *Lactobasillus acidophilus* DSM 20079 bakterisi suşlarının MCFarland densitometresinde mikrobiyal yük ölçümü sonuçları; her iki bakteri içinde $1,5 \times 10^8$ kob/mL değerini vermiştir. %2 oranında, analiz yapılacak hafta sayısı kadar 200 ml'lik siyah üzüm suyu şişelerine steril ortamda 4'er ml ilave edilerek ağzaları kapatılıp 4 °C'de depolamaya bırakılmıştır. Probiyotik üzüm suyu örnekleri deneme deseni Şekil 3.3'de ve probiyotikli üzüm suyu görüntüleri Şekil 3.4'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Probiyotik üzüm suyu örnekleri deneme deseni



Şekil 3.4. Probiyotik üzüm suları görünümü

3.2.4 Probiyotik Bakteri Sayımı

Probiyotik bakteri kolonilerinin sayımı için klasik yayma kültür yöntemi kullanılmıştır. Analiz için 8,5 g NaCl 1 L saf su içerisinde çözündürülerek hazırlanan %85'lik fizyolojik su 9'ar ml miktarda tüplere aktararak hermetik kapama yapılmıştır. Hazırlanan tüpler 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Aseptik koşullar altında örneklerden 1'er ml alınmış ve içerisinde 9 ml steril fizyolojik su bulunan tüplere aktararak 10^{-8} 'e kadar dilüsyonlara seyreltilmiştir. Daha sonra seyreltilmiş örneklerden 0,1 ml alınarak MRS Agar üzerine yayma kültür yöntemi ile 2 paralel olarak yayılmıştır. İnkübatörde 37 °C'de anaerobik jar içerisinde mikroorganizmalar için oksijensiz ortam sağlanarak 48 saat inkübe edildikten sonra oluşan koloniler (kob/ml) sayılmıştır. Bakterilerin sayımı depolama boyunca 1., 7., 14., 21.'i günlerinde bakılmıştır. Probiyotik bakteri sayım sonuçları logaritmik değerleri hesaplanarak kaydedilmiştir.

3.2.5. pH Tayini

Ölçümlerden önce, pH metre (Mettler TOLEDO, ABD) kalibrasyon tamponları kullanılarak kalibre edilmiştir. pH tayini üzüm suyu örneklerinin içerisinde pH probunun daldırılmasıyla yapılmıştır (Cemeroğlu, 2007).

3.2.6. Suda Çözünür Kuru Madde Tayini (Brix)

Refraktometrik yöntem, üzüm suyu içerisindeki suda çözünen kuru madde miktarının tayini için kullanılmıştır. Üzüm suyu örneklerinin suda çözünür kuru madde değerleri (°Brix) Abbe refraktometresi (Worldbest 2WA) ile 20 °C’de ölçülmüştür (Karaca, 2012). Brix değerlerini belirlemek için, her numuneden ayrı ayrı alınan birkaç damla üzüm suyu, prizma üzerine yerleştirilmiş ve 20 °C’de okunan değerler kaydedilmiştir.

3.2.7. Toplam Titrasyon Asitliği (TTA)

Titration asitliği ölçülmek istenen üzüm suyu örneklerinden puar ve pipet yardımıyla 5’er ml alınıp 4 kat saf suyla seyreltilmiştir. 0.1 N Sodyum Hidroksit (NaOH) çözeltisi kullanılarak titrimetrik yöntem uygulanmıştır. pH 8.1’ e ulaşıncaya kadar titre edilmiştir “(Şekil 3.5)” (Shwartz ve ark., 2008). İstenen pH değerine ulaşıncaya kadar harcanan Sodyum Hidroksit çözeltisi miktarı miligram cinsinde olacak şekilde kaydedilmiş ve deney 2 paralel olarak yapılmıştır. Üzüm suyu örneklerinin titration asitliği miktarı, % tartarik asit cinsinden hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2018).

$$\% \text{ Titration asitliği} = \frac{(V)*(E)*(f)*(100)}{M}$$

V: Harcanan 0,1 N NaOH miktarı, ml

f: Titrationda kullanılan baz çözeltisinin normalitesi eğer tam 0,1 değilse, f değeri çözeltinin faktörüdür. Tam 0,1 ise f=1’dir.

E: 1 ml 0,1 N Sodyum Hidroksitin eşdeğerindeki asit miktarı

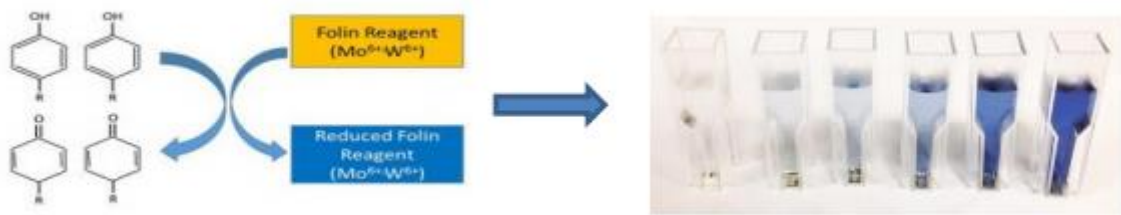
M: Titre edilen örneğin gerçek miktarı (ml)



Şekil 3.5. Üzüm suyu titrasyon deneyi

3.2.8. Toplam Fenolik Madde Tayini

Üzüm suyu örneklerinde toplam fenolik madde miktarı analizi, Waterhouse tarafından bildirilen prosedüre göre, Folin-Coicalteau çözeltisi ile verdiği reaksiyon sonucu oluşan renklerin spektrofotometrede okunması ile yapılmıştır. Fenolik bileşiklerin konsantrasyonu arttıkça mavi renk yoğunluğu artar “(Şekil 3.6)”.



Şekil 3.6. Folin -Coicalteau reaktifi ile fenolik bileşenlerin reaksiyonu

Folin-Ciocalteu (FCR) ile fenolik madde tayini aşamaları şunlardır;

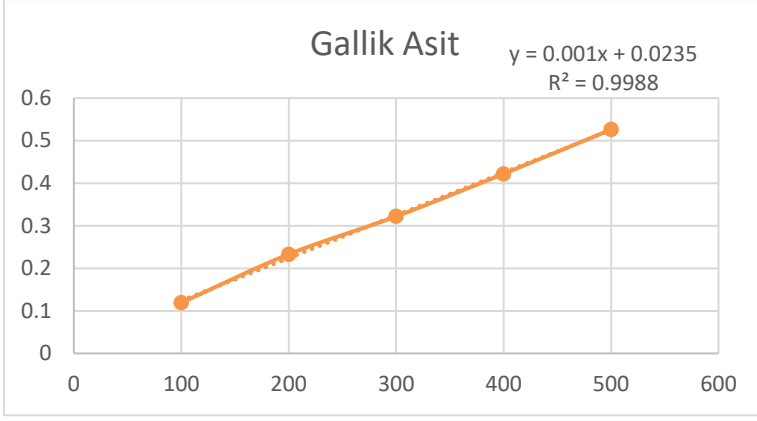
Otomatik pipet yardımıyla çekilen 40 µL üzüm suyu örneği tüp içerisine ilave edilmiştir. Üzerine pipet yardımıyla 3,16 mL saf su ilavesinin ardından otomatik pipet yardımıyla çekilen 200 µL Folin-Ciocalteu ayırıcı ilavesi ile oluşan karışım 3-8 dakika boyunca bekletilmiştir. Bekletilen karışımın üzerine otomatik pipet yardımıyla 600 µL sodyum karbonat (%20) çözeltisi ilave edilip karıştırılmış ve 1 saat boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta beklemiştir. Vorteks yardımıyla karıştırılan çözelti spektrofotometre küvetine aktarılmıştır. Spektrofotometreye yerleştirilen çözelti aynı oranda hazırlanan şahide karşı 765 nm dalga boyunda ölçüme tabi tutulur.

3 paralel hazırlanan ve sonuçları okunan absorbans değerlerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri (GAE) olan fenolik madde miktarı gallik asit standart eğrisinin oluşturulmasıyla hesaplanmıştır. Standart GAE kalibrasyon grafiği için 100, 200, 300, 400 ve 500 mg/L olarak belirlenmiş gallik asit çözeltilerinin absorbansları aynı yöntem uygulanarak hazırlanmış ve ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi (R^2) elde edilmiştir (Waterhouse, 2002).

Çizelge 3.1. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltiler (100-500 mg/L)

Standart	Konsantrasyon (mg/L)	Absorbans (nm)
Gallik asit	100	0,119
Gallik asit	200	0,233
Gallik asit	300	0,322
Gallik asit	400	0,422
Gallik asit	500	0,526

Örneklerin Çizelge 3.1’de verilen absorbans değerleri gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik madde miktarı standart eğri denklemi yardımıyla ($y= 0,001x+0,0235$) hesaplanmıştır. Gallik asit kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 3.7’de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. Gallik asit standardı ile oluşturulmuş kalibrasyon eğrisi

3.2.9. Reoloji Analizi

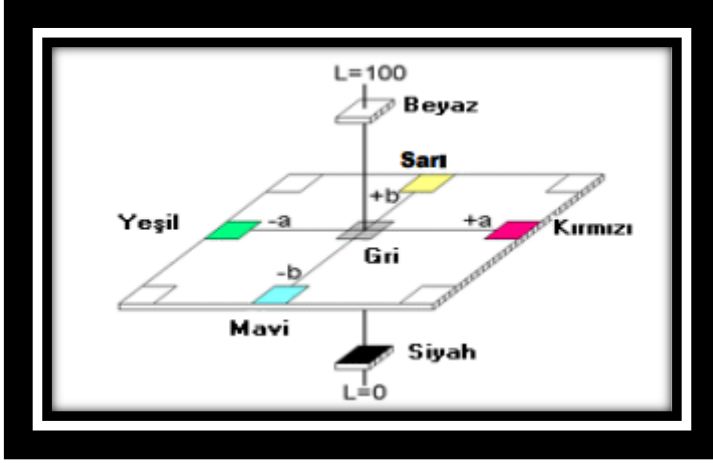
Probiyotikli üzüm suyu örneklerinin reoloji analizi Namık Kemal Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarındaki TA Discovery HR-20 reometre cihazı kullanılarak yapılmıştır “(Şekil 3.8)”. Reoloji değerleri 3 farklı örnek ile ölçüm yapılacak cihazın sıvı ürüne uygun olan yuvarlak ölçüm başlığı seçilerek, reometrenin ilgili kısmına birkaç damla konulup cihazın bağlı olduğu bilgisayar üzerinden okunmasıyla reoloji değerleri Pa.s cinsinden ölçülmüştür. Analizler 2 paralel olacak şekilde tekrarlanmıştır. Analizler, üzüm suyu üretimini takiben depolamanın 1. ve 21. günlerde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.8. Üzüm suyu reoloji analizi

3.2.10. Renk Analizi

Üzüm suyu örneklerinin rengi Konica Minolta Chroma Meter CR-5 renk ölçüm cihazı kullanılarak yapılmış olup sonuçlar L^* , a^* ve b^* değerleri olarak verilmiştir (Aktaş vd., 2013). Şekil 3.9.'da gösterilen L^* , a^* , b^* renk koordinat sisteminde L^* değeri renk parlaklığını/aydınlığını göstermekte ve değer aralığı 0-100 arasında değişmektedir. Renk koordinat düzlemindeki a^* değeri (+) ise kırmızı, (-) ise yeşil rengi ifade ederken değeri -120 ile 120 arasındadır. b^* değeri ise renk koordinat düzleminde bulunmasına rağmen değer aralığı yoktur (+) ise sarı, (-) olduğunda ise mavi rengi göstermektedir. Renk değerleri ölçülecek 3 örneğin cihazın ürüne uygun olan (sıvı ürün) haznesi seçilerek, kolorimetrenin cihazının içerisine yerleştirilip cihazın renk değeri okumaları gerçekleştirilmiştir. Analizler üç paralel olacak şekilde yapılmıştır. Renk analizleri, üzüm suyu üretimini takiben depolamanın 1. ve 21. günlerde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.9. L^* , a^* , b^* renk değerlerinin X-Y düzlemlerindeki şematik görünümü

3.2.11. İstatiksel Analizler

İstatistiksel analizler ve hesaplamalar için IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) ve MS-Excel 2007 programları kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

Çalışmada yer alan değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinin gösteriminde Ortalama \pm standart sapma değerleri verilmiştir. Kontrol, LAÜS ve LFÜS örnekleri için, farklı ölçüm zamanlarında elde edilen ölçüm değerlerinin karşılaştırılmasında ANOVA ve t testi kullanılmıştır. Gruplar arasında önemli farklılık olduğu belirlenen değişkenlerin ikili karşılaştırılmasında Tukey metodu tercih edildi. Farklı ölçüm zamanlarında elde edilen Kontrol, LAÜS ve LFÜS örneklerinin ölçüm değerlerinin karşılaştırılmasında da tekrarlı ölçümler için (repeated measures) ANOVA ve Paired t testi kullanıldı. Gruplar arasında önemli farklılık olduğu belirlenen değişkenlerin ikili karşılaştırılmasında Bonferroni metodu tercih edildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada hazırlanan üzüm suyu örnekleri 3 gruba ayrılmıştır. İlk gruba probiyotik bakteri ilave edilmemiş ve kontrol grubu olarak adlandırılmıştır. İkinci gruba *L. acidophilus* DSM 20079 bakterisi ilave edilmiş ve üçüncü gruba da *L. fermentum* CECT 5716 bakterisi ilave edilmiş üzüm suyu olarak değerlendirilmiştir. Tüm örnekler +4 °C’de 21 gün boyunca depolanmıştır. Depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde üzüm sularından alınan örneklerle pH, brix, titrasyon asitliği, toplam fenolik madde, renk, reoloji ve mikrobiyolojik analizler uygulanmıştır. Elde edilen bulgular ve bunlarla ilgili yorum ve tartışmalara aşağıda yer verilmiştir. Araştırmada, Kontrol; probiyotik bakteri ilave edilmemiş üzüm suyunu, LAÜS; *L. acidophilus* eklenmiş fonksiyonel üzüm suyunu ve LFÜS; *L. fermentum* eklenmiş fonksiyonel üzüm suyunu temsil etmektedir.

4.1. Mikrobiyolojik Analizler

4.1.1. Probiyotik Bakteri Sayıları

Üzüm suyu örneklerindeki probiyotik bakteri sayılarında 21 günlük depolama boyunca ölçülen değerlerin sonuçları Çizelge 4.1’de, depolama boyunca bakteri değişim grafiği ise Şekil 4.1’de gösterilmiştir.

L. acidophilus ilave edilen üzüm suyu örneğinin depolamanın ilk gününde 7,61 log kob/mL seviyesinde olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 14. gününe kadar probiyotik bakterilerin sayısında artış gözlenmiştir. LAÜS örneğinde en yüksek değer 14. günde 7,93 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Depolamanın 14. gününden depolama sonuna kadar bakteri sayısında %7,7 oranında bir düşüş gözlenmiştir ve 21. günde değeri 7,32 log kob/mL olarak belirlenmiştir. LAÜS örneğinin ilk günden depolamanın son gününe kadar bakteri değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).

L. fermentum ilave edilen üzüm suyu örneğinin depolamanın ilk gününde 6,73 log kob/mL seviyesinde olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 14. gününe kadar probiyotik bakterinin sayısında artış gözlenmiştir. LFÜS örneğinde en yüksek bakteri miktarı 14. günde 7,82 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Depolamanın 14. gününden depolama sonuna kadar bakteri değerinde %7,6 oranında bir düşüş gözlenmiştir ve 21. günde değeri 7,22 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. LFÜS örneğinde depolamanın ilk günüyle diğer günleri arasındaki bakteri değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).

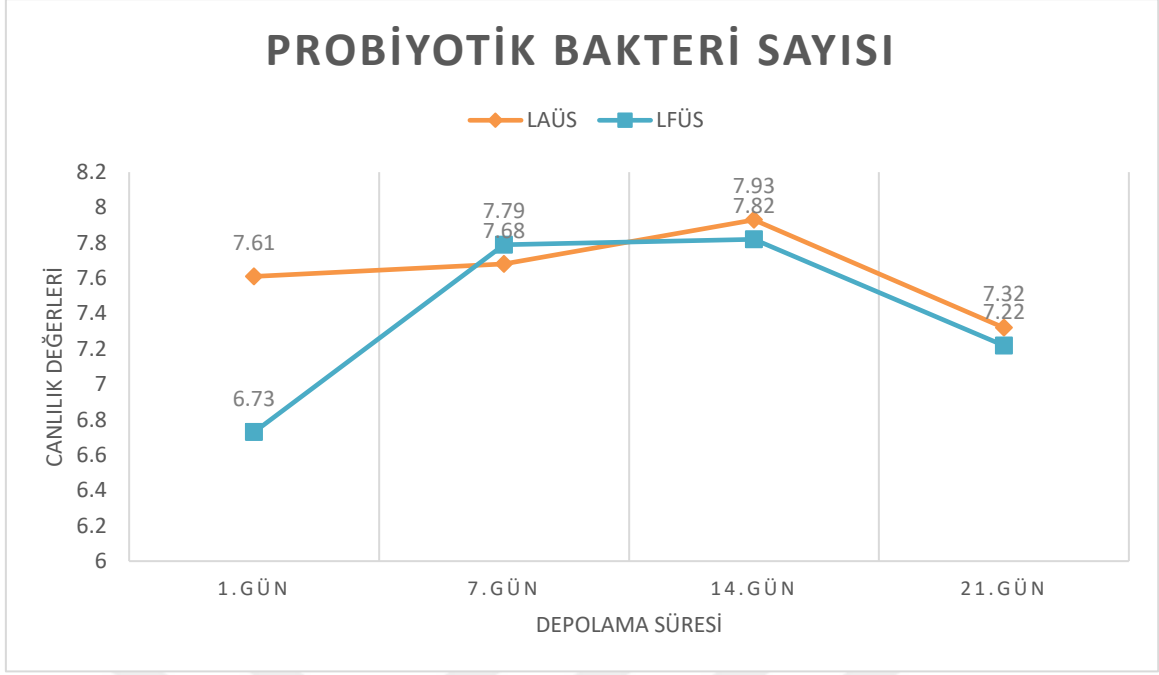
Üzüm suyuna ilave edilen her iki probiyotik bakteri çeşidi de hızlı bir adaptasyon sağlayarak depolamanın 14. gününe kadar artış göstermiştir. 14. günden sonra her iki bakteri çeşidinde de düşüş gözlenmiştir. Bakteri konsantrasyonunda gözlenen düşüşler soğuk depolamaya bağlı olarak zamanla bakterilerin duyarlılığının artmasıyla ilişkilendirilmektedir. Ayrıca ambalajın oksijen geçirgenliğinin de bakteri değerini olumsuz etkilediği düşünülmektedir (Gueimonde ve Salminen, 2006). Depolama boyunca LAÜS ve LFÜS örneklerinin bakteri değerleri karşılaştırılmıştır. 21 gün boyunca üzüm suyu örneklerindeki bakterilerin ortalamaları hesaplandığında LFÜS örneğindeki probiyotik bakterilerin LAÜS örneğine göre %3,2 oranında daha az gelişim gösterdiği belirlenmiştir. Depolama süresinin arttırılması halinde *L. acidophilus* bakterisinin kullanımının *L. fermentum* bakterisinden daha uygun olacağını düşünülmektedir. Depolama boyunca bakteri kolonilerinin MRS Agar üzerindeki koloni görüntüleri şekil 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5’de gösterilmiştir.

İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, probiyotik bakteri sayılarında depolama süresinin önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Genel olarak: her iki örnekte de depolama sonundaki probiyotik bakteri düzeyleri tüketim anında üründe olması gereken canlı bakteri sayısını ($>10^6$ kob/mL) sağlamış olup üzüm suyunun probiyotik bakteriler için uygun bir taşıyıcı gıda matrisi olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.1. Probiyotik bakteri ilaveli üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca probiyotik bakteri sayılarındaki değişim (log kob/mL)

Üzüm Suyu Örnekleri	1.gün	7.gün	14.gün	21.gün
LAÜS	7,61±0,06 ^{bc,A}	7,68±0,12 ^{ab,A}	7,93±0,23 ^{a,A}	7,32±0,04 ^{c,A}
LFÜS	6,73±0,3 ^{b,B}	7,79±0,2 ^{a,A}	7,82±0,11 ^{a,A}	7,22±0,23 ^{ab,A}

Aynı sütunda yer alan büyük harfler (A,B) her bir üzüm suyu örneği arasındaki depolama süresince istatistiksel farklılığının, Aynı satırda yer alan küçük harfler (a,b,c) ise örneklerin günler arası istatistiksel farklılığınının karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık ($p<0.05$) olduğunu, aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadığını göstermektedir ($p>0.05$). LAÜS: *Lactobacillus acidophilus* eklenmiş üzüm suyu, LFÜS: *Lactobacillus fermentum* eklenmiş üzüm suyu.



Şekil 4.1. Probiyotik bakteri ilaveli üzüm suyu örneklerinde depolama süresince bakteri değişimi (log kob/mL).

Literatür incelendiğinde meyve sularına probiyotik bakteri ilavesi yapılan çok sayıda çalışma görülmektedir. Meyve sularına ilave edilen probiyotik bakteri kültürlerinin mevcut çalışmamıza benzer şekilde depolama zamanının artmasına bağlı olarak canlılık seviyelerinde azalmaların tespit edildiği çalışmalar mevcuttur. Örneğin; yapılan bir çalışmada elma suyuna *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. plantarum* bakterileri ayrı ayrı ilave edilmiştir. Elma suyu örneklerinde 4 °C’de 28 günlük depolama boyunca asitli ortam koşullarına, diğer bakterilere göre daha dayanıklı olduğu düşünülen *L. acidophilus*’un canlılık konsantrasyonunu koruduğu gözlenmiştir. Depolama boyunca en büyük düşüş bakteri seviyesi *L. rhamnosus* bakterisinde gözlenmiştir. Çalışmamıza paralel olarak, tüm bakterilerin depolama sonuna doğru konsantrasyonlarında azalmalar gözlenmesine rağmen bakterilerin elma suyundaki bakteri düzeyinin 1×10^6 kob/mL ‘den yüksek olduğu belirlenmiştir (Chen vd.,2019).

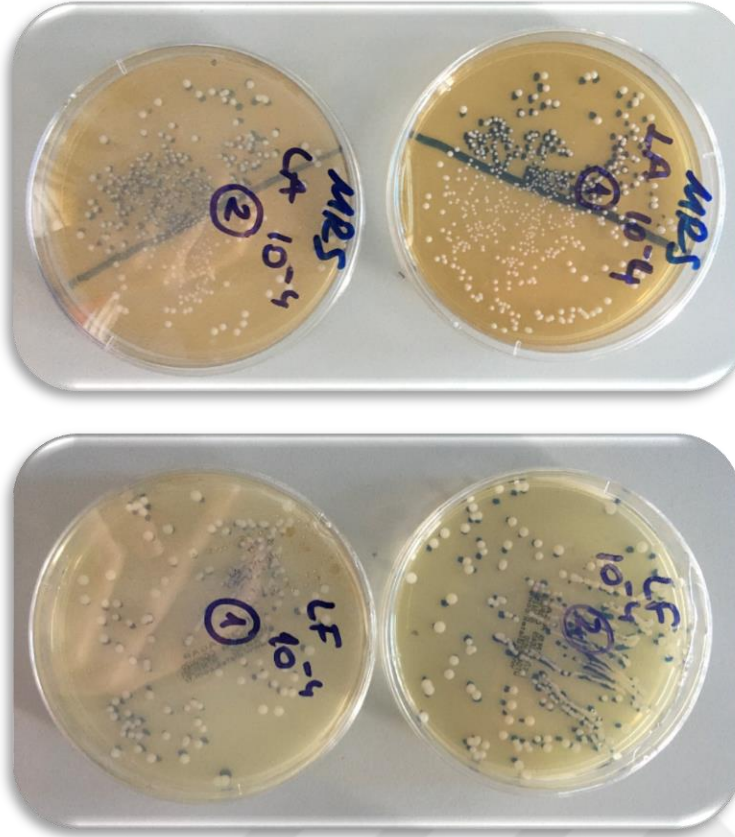
Malganji vd., (2016) çalışmalarında pastörize üzüm suyuna ekledikleri *L. plantarum*, *L. delbrueckii* ve *L. rhamnosus* bakterilerinin 4 hafta boyunca soğuk depolamada mikrobiyal canlılığını incelemişlerdir. Özellikle depolamanın 7. ve 14. günlerinde *L. delbrueckii* ve *L. rhamnosus* türlerinin canlılığında önemli bir azalma gözlenmezken depolamanın 21. ve 28. günlerinde örneklerdeki 3 bakteri türünün sayısında da önemli bir düşüş gözlenmiştir ($p < 0.05$). Bu nedenle üzüm suyuna dahil edilen bakteri türlerinin ve depolama süresinin,

çalışmamızla da benzer olarak bakteri seviyesindeki azalma üzerinde etkisi olduğu belirlenmiştir. Üzüm suyunun 4 haftalık depolama süresinin sonunda *L. plantarum* 10⁶ kob/mL, *L. delbrueckii* 10⁷ kob/mL ve *L. rhamnosus* 10⁸ kob/mL düzeylerinde canlılığını sürdürmüştür.

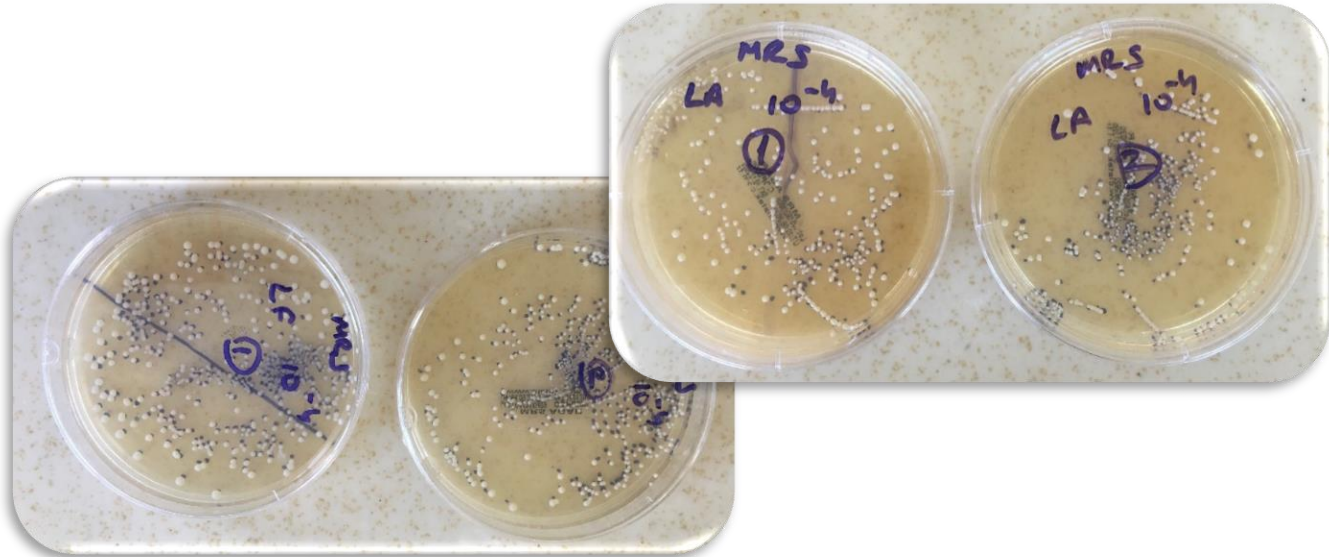
Mokhtari ve ark. (2019), çalışmalarında pastörize üzüm suyuna *L. acidophilus* ve *B. bifidum* probiyotik bakterilerini aljinat ile kapsüllenmiş şekilde ilave ettiklerinde bakteri konsantrasyonları sırasıyla 0.98 log kob/mL ve 1.16 log kob/mL azalma göstermiştir. Serbest halde ilave ettiklerinde ise *L. acidophilus*'un değeri başlangıçtan 1.99 log kob/mL ve kapsülsüz olarak ilave edilen *B. bifidum*'un değeri başlangıç değerinden 2.11 log kob/mL azalma göstermiştir. Meyve suyu probiyotiklerin gelişimi için iyi bir potansiyel olarak düşünülmektedir; bununla birlikte, yüksek depolama stabilitesi ile ilgili olarak, özellikle düşük pH değerindeki meyve sularında bakterileri zararlı çevresel koşullardan korumak için kapsülleme işleminin olumlu bir etki yapacağı düşünülmektedir.

Başka bir çalışmada; kızılıçık suyuna 3 çeşit probiyotik bakteri çeşidi; *L. rhamnosus*, *L. plantarum* ve *L. casei* ilave edilerek soğuk depolamanın (4 °C) bakteri seviyelerindeki etkisini incelenmiştir. pH 2,5 değerine ayarlanan kızılıçık suyunda depolamanın 7. gününe kadar tüm probiyotik bakterilerin canlılığını kaybettiği gözlenmiştir. pH 3,5 değerine ayarlandığında ise *L. rhamnosus* ve *L. plantarum* suşlarının canlılığı, başlangıçtaki 8,0 log cfu/mL değerinden 7 gün sonra sırasıyla 4,24 ve 4,20 log cfu/mL'ye düşmüştür. 21 gün sonunda ise *L. rhamnosus* suşu canlılığını tamamen kaybetmiştir. *L. casei* bakterisi ise depolama boyunca canlılığını korumakla kalmayıp önemli ölçüde arttırmıştır (p<0.05) (Nematollahi, 2016).

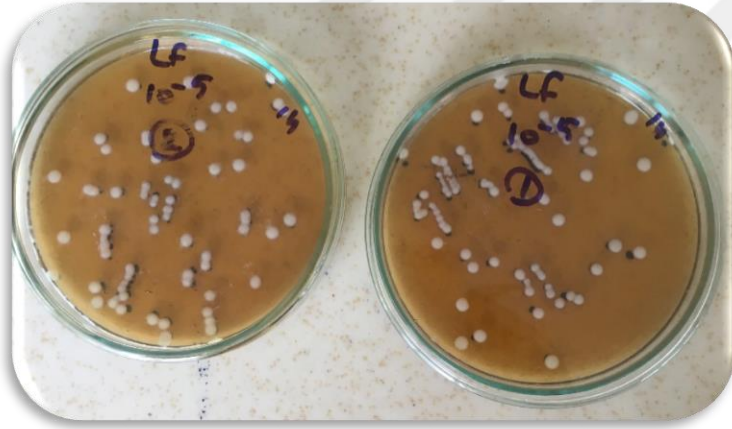
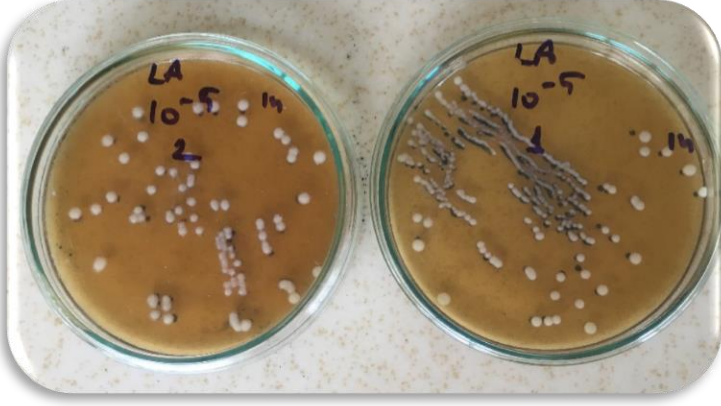
Zhu ve ark. (2020), yaptıkları bir çalışmada elma, portakal ve domates suyuna *L. sanfranciscensis* bakterisini ilave ederek 4 °C'de 28 günlük depolamanın başlangıcı ve sonu arasındaki canlı probiyotik sayılarındaki fark elma suyu, portakal suyu ve domates suyu için sırasıyla 0.52, 0.18 ve 0.53 log cfu / mL olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızla benzer olarak probiyotik bakteri canlılığında düşüş olmasına rağmen her üç meyve suyu örneğindeki probiyotik bakteri canlılık seviyesi depolama sonunda probiyotik gıda için önerilen standart seviyeyi (>10⁶–10⁷ cfu/ mL) karşıladığı belirlenmiştir.



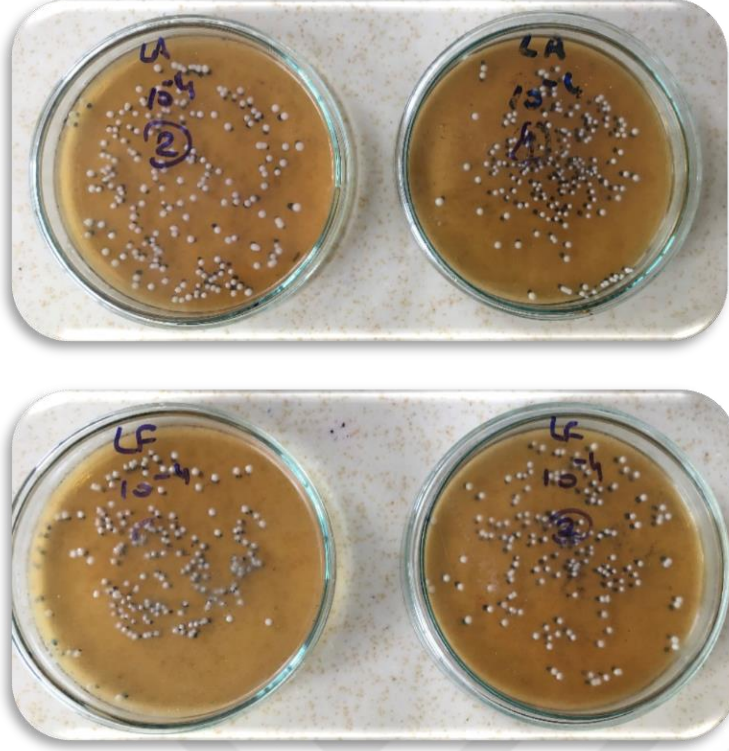
Şekil 4.2. LAÜS ve LFÜS örneklerinin 1.gün MRS Agara ekimi sonrasında oluşan koloniler



Şekil 4.3. LAÜS ve LFÜS örneklerinin 7.gün MRS Agara ekimi sonrasında oluşan koloniler



Şekil 4.4. LAÜS ve LFÜS örneklerinin 14.gün MRS Agara ekimi sonrasında oluşan koloniler



Şekil 4.5. LAÜS ve LFÜS örneklerinin 21.gün MRS Agara ekimi sonrasında oluşan koloniler

4.2. Fizikokimyasal Analizler

4.2.1. Üzüm Suyu Örneklerinin Brix Değerleri

Çözünür kuru madde içeriği üzüm suyunun bünyesindeki organik asitlerden, şekerlerden, vitamin ve minerallerden oluşmaktadır. Üzüm suyu örneklerinde 21 günlük depolama boyunca ölçülen çözünür kuru madde (brix) değerlerinin ortalamalarına eklenmiş standart sapmaları ile birlikte Çizelge 4.2’de, depolama boyunca brix değişim grafiği ise Şekil 4.6’da gösterilmiştir.

İçerisine probiyotik bakteri ilave edilmemiş kontrol örneği depolamanın 1. gününde 17,70 °Bx değerinde ölçülürken 21. gününde 18,20 °Bx değerinde ölçülmüştür. Depolama boyunca brix değeri artış göstermiştir. Kontrol örneğinde depolama boyunca gözlenen değişimde önemli bir farklılık olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

Depolama süresince en düşük brix değeri LAÜS örneğinde 1. gün 17,45 olarak ölçülmüştür. 1. gün ile diğer günler arasında önemli bir farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). Depolama boyunca dalgalı bir artış gösteren LAÜS örneği depolama sonunda %4,9’luk bir

artış göstererek 21. günde brix değeri 18,30 olarak ölçülmüştür. Üzüm suyu örneklerinin en yüksek brix değeri LFÜS örneğinde 1. gün (19,40) ölçülmüştür. LFÜS örneğinin 1. ve 7. gün sonuçları ile 14. ve 21. günlerdeki sonuçları arasında önemli bir farklılık vardır ($p<0.05$). LFÜS örneği depolamanın sonunda %7'lik bir azalış göstererek 21. günde brix değeri 18,05 olarak ölçülmüştür. Depolama boyunca brix değerlerindeki düşüşün istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

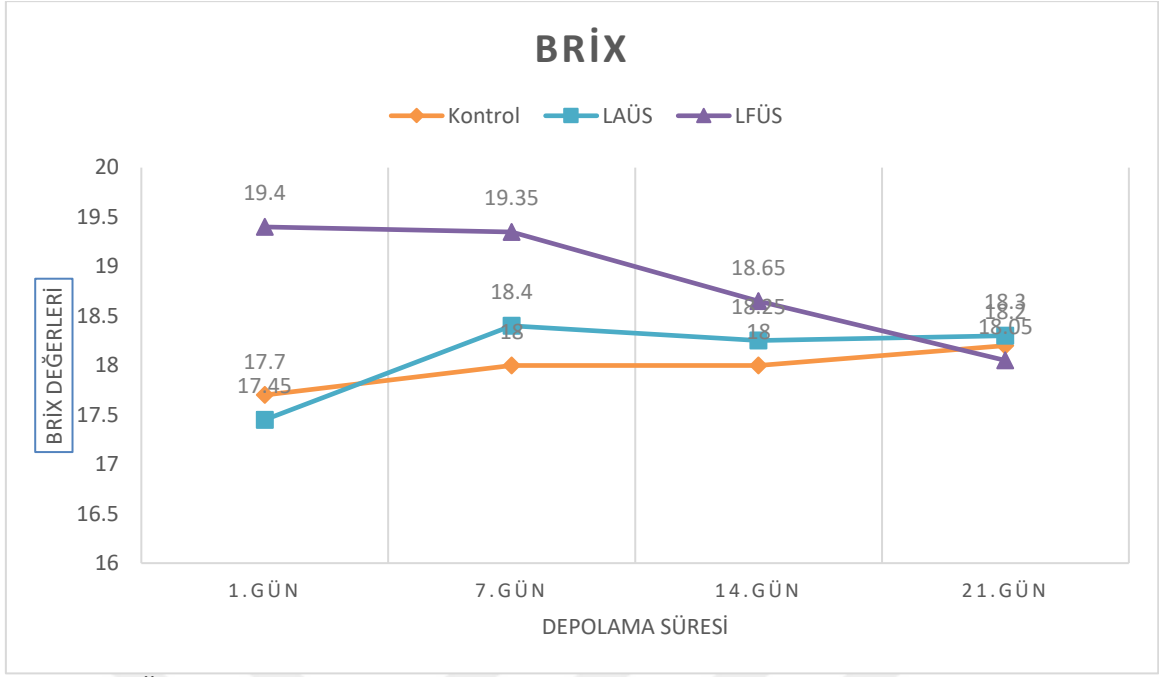
L. acidophilus ilave edilmiş üzüm suyu örneklerinin brix değeri depolama boyunca artış gösterirken *L. fermentum* ilaveli üzüm suyu örneklerinin brix değerleri düşüş göstermiştir. Brix değerlerindeki azalış ve artış meyve suyunda bulunan probiyotik bakterilerin kuru madde içeriğindeki şekerleri kullanarak metabolizmaları için substrat olarak kullanma kabiliyetiyle ilişkilendirilebilir (Garcia vd.,2018). Genel olarak analiz sonuçlarına bakıldığında depolama süresinin ve bakteri çeşidinin brix değeri üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir.

Literatür bilgileri incelendiğinde, uygun olgunluk düzeyindeki üzümlerden elde edilen üzüm suyu briksinin 18–24 °Bx değerleri arasında olduğu (Dıblan, 2013) ve çalışmamızda ölçülen brix değerlerinin literatürde belirtilen standart değerlere uygun olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca brix ölçüm değerleri (°Bx)

Üzüm Suyu Örnekleri	1.gün	7.gün	14.gün	21.gün
Kontrol	17,70±0,00 ^{b,BC}	18,00±0,00 ^{a,BC}	18,00±0,00 ^{a,C}	18,20±0,00 ^{c,AB}
LAÜS	17,45±0,07 ^{b,C}	18,40±0,14 ^{a,B}	18,25±0,07 ^{a,B}	18,30±0,00 ^{a,A}
LFÜS	19,40±0,00 ^{a,A}	19,35±0,07 ^{a,A}	18,65±0,07 ^{b,A}	18,05±0,07 ^{c,B}

Aynı sütunda yer alan büyük harfler (A,B,C) her bir üzüm suyu örneği arasındaki depolama süresince istatistiksel farklılığının, Aynı satırda yer alan küçük harfler (a,b,c) ise örneklerin günler arası istatistiksel farklılığınının karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık ($p<0.05$) olduğunu, aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadığını göstermektedir ($p>0.05$). LAÜS: *Lactobacillus acidophilus* eklenmiş üzüm suyu, LFÜS: *Lactobacillus fermentum* eklenmiş üzüm suyu.



Şekil 4.6. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince brix değişimi

Toprak (2019) yaptığı çalışmada, keçiboynuzu ve ramazan şerbetlerine, 1×10^8 kob/mL konsantrasyonunda *L. rhamnosus GG* ilave ederek örnekleri 28 gün depolama süresince 4 °C’de muhafaza etmiştir. Depolama boyunca brix değerlerinde hafif bir düşüş görülse de istatistiksel olarak önemli bir değişiklik olmadığını bildirmiştir ($p > 0.05$).

Başka bir çalışmada Garcia vd., (2018) elma suyuna ilave ettikleri *L. brevis 59*, *L. fermentum* ve *L. paracasei 108* içeren elma suyu örneklerinde ve probiyotik bakteri içermeyen kontrol örneğinde brix değerlerinde 4 °C’de 21 günlük depolama boyunca artış gözlenirken *L. plantarum 49* içeren elma suyu örneğinde azalış gözlenmiştir ($p < 0.05$). Çalışmamıza benzer olarak probiyotik bakteri ilave edilmemiş kontrol grubu ile LAÜS örneğinin brix değerleri artış gösterirken LFÜS örneği düşüş göstermiştir.

Mokhtari ve ark. (2019), çalışmalarında pastörize üzüm suyuna *L. acidophilus* ve *B. bifidum* probiyotik bakterilerini aljinat ile kapsüllenmiş ve serbest halde olmak üzere 2 şekilde ilave ettiklerinde kapsülsüz ilave edilen bakterilerin brix değerlerinin önemli ölçüde azaldığı görülmüş ve bu durum şeker tüketimiyle ilişkilendirilmiştir.

4.2.2. Üzüm Suyu Örneklerinin pH Değerleri

Üzüm suyunda biyoaktif bileşiklerin etkisini gösteren önemli kalite parametrelerinden biri pH'dır. pH değeri meyve suyunun kalitesi ve raf ömrü üzerinde etkilidir. Üzüm suyu

örneklerindeki 21 günlük depolama boyunca ölçülen pH değerleri Çizelge 4.3' de, depolama boyunca pH değişim grafiği ise Şekil 4.7'de gösterilmiştir.

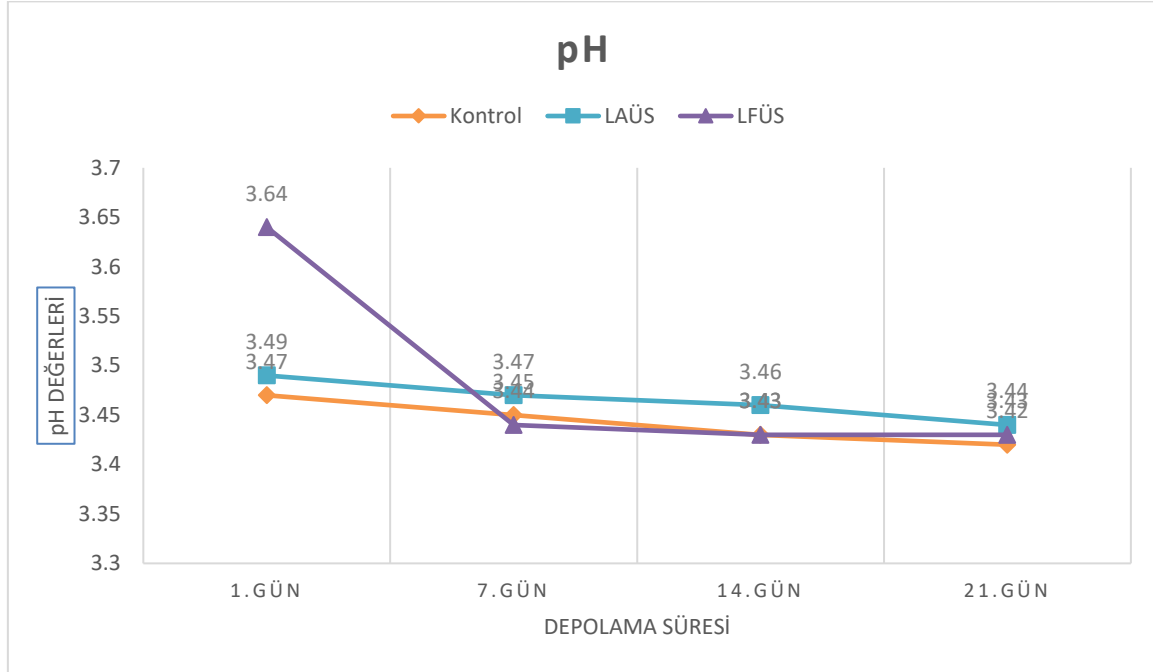
Tüm örnekler incelendiğinde pH değerlerinin 3,42 ile 3,64 arasında değiştiği gözlenmiştir. Depolama boyunca tüm örneklerde ölçülen en yüksek değer *L. fermentum* eklenmiş üzüm suyunun ilk gününe (3,64) aitken ölçülen en düşük pH değeri kontrol örneğinin depolama sonundaki 21.'i gününe (3,42) aittir. Çalışma sonuçları incelendiğinde Kontrol, LAÜS ve LFÜS örneklerinin hepsinde depolamanın uzamasıyla birlikte pH değerlerinin düştüğü gözlenmiştir. LAÜS ve Kontrol örneğinin istatistiksel olarak ikili karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında 1., 7., 14. ve 21. günlerdeki değişimlerde önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). LFÜS örneğinin 1. gün ile diğer günler arasında pH değerleri arasında önemli bir farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). *L. fermentum* ilave edilmiş üzüm suyu örneğinin pH sonuçları ve Çizelge 4.1'deki probiyotik bakteri canlılık sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır; 1. gün 6,73 log kob/mL olan canlılık seviyesi 7. gün 7,82 log kob/mL değerine yükselmiştir. pH değerindeki düşüş bakteri sayısındaki artıştan kaynaklanmaktadır. Probiyotik bakteri seviyesindeki artış metabolizma faaliyetlerini arttırmış ve ortamdaki organik asit miktarı yükselmiştir. Ortamdaki organik asit miktarının artması ilk gün pH değeri 3,64 olan üzüm suyunun 7. günde 3,44 değerine düşüşünü açıklamaktadır. Mevcut çalışmada probiyotik bakteri ilave edilen üzüm suyu örnekleri fermente edilmemiştir. Bu nedenle örneklerin pH değerlerinde bariz değişimlerin olmadığı düşünülmektedir. Depolama süresinin ve bakteri çeşidinin pH değerleri üzerinde önemli bir etkisi yoktur.

Çizelge 4.3. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca pH ölçüm değerleri

Üzüm Suyu Örnekleri	1.gün	7.gün	14.gün	21.gün
Kontrol	3,47±0,00 ^{a,A}	3,45±0,01 ^{ab,A}	3,43±0,01 ^{b,A}	3,42±0,00 ^{bc,A}
LAÜS	3,49±0,01 ^{a,A}	3,47±0,01 ^{ab,A}	3,46±0,00 ^{ab,A}	3,44±0,01 ^{b,A}
LFÜS	3,64±0,00 ^{b,B}	3,44±0,01 ^{a,A}	3,43±0,01 ^{a,A}	3,43±0,00 ^{a,A}

Aynı sütunda yer alan büyük harfler (A,B) her bir üzüm suyu örneği arasındaki depolama süresince istatistiksel farklılığının, Aynı satırda yer alan küçük harfler (a,b) ise örneklerin günler arası istatistiksel farklılığınının karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık ($p<0.05$) olduğunu, aynı harfler

ise örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadığını göstermektedir ($p>0.05$). LAÜS: *Lactobacillus acidophilus* eklenmiş üzüm suyu, LFÜS: *Lactobacillus fermentum* eklenmiş üzüm suyu.



Şekil 4.7. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince pH değişimi

Pimentel vd. (2015), yaptıkları bir çalışmada elma suyuna probiyotik mikroorganizma (*L. paracasei ssp. paracasei*), prebiyotik (oligofruktoz) veya probiyotik + prebiyotik (sinbiyotik) ilave ederek cam ve plastik ambalaj içerisinde 4 °C’ de 28 gün depolayarak fizikokimyasal özelliklerini incelemiştir. Yalnızca probiyotik bakteri ilave edilip cam ambalajda depolanan elma suyu örneklerinin pH değerlerinde 3,83’ ten 3,79’ a hafif bir düşüş gözlenmiştir. pH değerlerindeki minimal değişim mevcut çalışmayla benzerlik gösterip istatistiki olarak önemli bir farklılık olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

Oruç ve Çakır (2019), yaptıkları çalışmada taze sıkılmış karpuz suyuna probiyotik mikroorganizmalar ilave ederek 18 saat boyunca fermente etmişlerdir. Fermentasyon süresince pH değerlerinin düştüğünü saptamışlardır. Karpuz sularının fermentasyonu boyunca probiyotik mikroorganizmaların şekerleri kullanarak organik asitler üretmesiyle artan hidrojen konsantrasyonunun pH değerlerini düşürdüğünü düşünmüşlerdir. Çalışmamızla benzer olarak depolama süresince probiyotik bakteri canlılığının artmasıyla mikrobiyal faaliyetlerin artması, pH değerlerinin düşüşüne anlamlı şekilde açıklık getirmektedir.

Üzüm suyunda oran olarak malik asit ve tartarik asit en önemli asitlerdir. Bu asitler, toplam asit miktarının %90'ından daha fazlasını kapsarlar ve üzüm suyu pH'nın, üzüm suyunun bileşimindeki organik asitler sebebiyle 3,3-3,8 civarında olduğu bilinmektedir (Gülcü, 2008). Üzüm suyu örneklerinden depolama boyunca elde edilen sonuçlar literatür verilerinde belirtilen standart aralığa uygun bulunmuştur.

4.2.3. Üzüm Suyu Örneklerinin % Titrasyon Asitliği Değerleri

Tartarik asit; üzüm suyu bileşimindeki en önemli asittir ve üzüm suyu kalitesi için önemli bir standarttır. Üzüm suyu örneklerindeki 21 günlük depolama % titrasyon asitliği değerleri ortalamaları ve standart sapmaları ile birlikte Çizelge 4.4' de, depolama boyunca % titrasyon asitliği değişim grafiği ise Şekil 4.8'de gösterilmiştir.

Kontrol örneğinin % titrasyon asitliği miktarı depolama boyunca genel olarak sabit değerlerde kalmıştır. *L. acidophilus* eklenmiş üzüm suyu örneği depolamanın 1. günü % titrasyon asitliği 0,52 değerini gösterirken 21. günde %0,71 olarak ölçülmüştür. *L. fermentum* eklenmiş üzüm suyu ise depolamanın 1. gününde % Titrasyon asitliği 0,44 değerini gösterirken 21. günde %0,74 olarak ölçülmüştür. LAÜS ve LFÜS örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinde 7. günden sonra artma eğilimi saptanmıştır. Bu durumun pH değerindeki düşüştan kaynaklandığı düşünülmektedir. İstatiksel olarak LAÜS ve LFÜS örneklerinin 7. günü elde edilen sonuçları ile 14. ve 21. günlerde elde edilen sonuçlar arasında önemli bir fark olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).

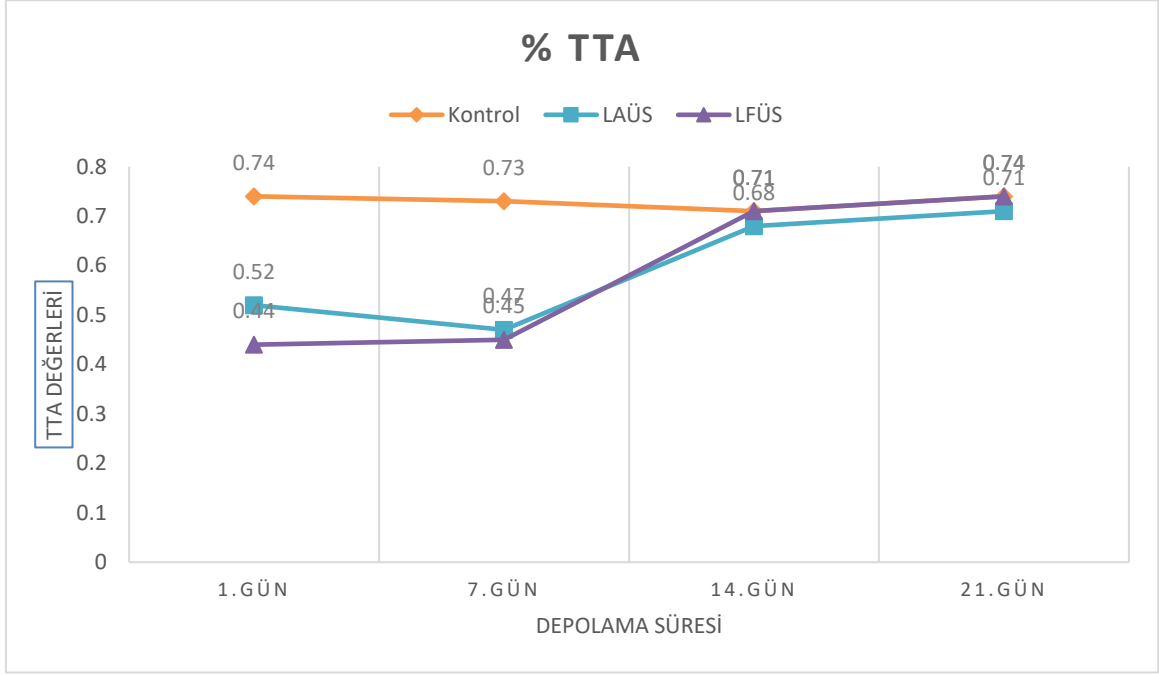
Çalışma sonuçları probiyotik suşlarının canlılık seviyeleriyle karşılaştırıldığında ortamdaki şekerleri kullanan bakterilerin artmasıyla organik asit miktarı artmıştır. Böylece % asitlik değerlerindeki artışın probiyotik bakterilerle ilişkili olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.4. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca % Titrasyon asitliği ölçüm değerleri

Üzüm Suyu Örnekleri	1.gün	7.gün	14.gün	21.gün
Kontrol	0,74±0,11 ^{a,A}	0,73±0,07 ^{a,A}	0,71±0,01 ^{a,A}	0,74±0,01 ^{a,A}
LAÜS	0,52±0,01 ^{b,AB}	0,47±0,01 ^{b,B}	0,68±0,02 ^{a,A}	0,71±0,01 ^{a,A}

LFÜS	0,44±0,01 ^{b,B}	0,45±0,00 ^{b,B}	0,71±0,02 ^{a,A}	0,74±0,01 ^{a,A}
-------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------

Aynı sütunda yer alan büyük harfler (A,B) her bir üzüm suyu örneği arasındaki depolama süresince istatistiksel farklılığının, Aynı satırda yer alan küçük harfler (a,b) ise örneklerin günler arası istatistiksel farklılığınının karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık ($p < 0.05$) olduğunu, aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadığını göstermektedir ($p > 0.05$). LAÜS: *Lactobacillus acidophilus* eklenmiş üzüm suyu, LFÜS: *Lactobacillus fermentum* eklenmiş üzüm suyu.



Şekil 4.8. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince % TTA değişimi

Barat ve Özcan (2016), yaptıkları çalışmada karadut, siyah üzüm ve kıvılcık meyvelerini ve probiyotik bakterileri ilave ettikleri sütlerin 28 gün depolama süresince pH değerlerindeki azalışa paralel olarak titrasyon asitliği değerlerinde de artış gözlemlemişlerdir. Sonuçlar bizim çalışmamızla benzerlik göstermiştir.

Boz (2020), yaptığı çalışmada havuç, elma ve vişne suyu eklenmiş probiyotik *L. rhamnosus* katkılı fonksiyonel soğuk kahve içecekleri üretmiştir. Araştırmada, 28 gün boyunca soğuk depolama yapılan (4 °C) havuç suyu ve elma suyu eklenmiştir. Probiyotikli fonksiyonel kahve içeceklerinin asitlik değerlerinde depolama süresi sonunda ilk güne göre artış görülürken yalnızca vişne suyu eklenmiş probiyotikli fonksiyonel kahve içeceğinin asitlik değeri değişmemiştir.

Zhu ve ark. (2020), yaptıkları bir çalışmada elma, portakal ve domates suyuna *L. sanfranciscensis* bakterisini ilave ederek 4 °C'de 28 gün boyunca pH ve titrasyon asitliği değerlerini incelemişlerdir. Çalışmamızla benzer olarak portakal ve domates suyu örneklerinde depolama boyunca %asitlik değerlerinde artış ve pH değerlerinde bir miktar düşüş gözlenmiştir. Bunun sebebini *L. sanfranciscensis* bakterisinin meyve sularındaki fruktozu metabolize ederek asetik asit, laktik asit ve karbondioksit gibi yan ürünlerin oluşmasıyla açıklamışlardır.

Üzüm suyunun % titrasyon değerlerinin 0,41-0,78 aralığında değiştiği bilinmektedir (Özen, 2015). Üzüm suyu örneklerinden depolama boyunca elde edilen %asitlik sonuçları literatür verilerinde belirtilen standart aralığa uygun bulunmuştur.

4.2.4. Üzüm Suyu Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Değerleri

Fenolik madde miktarı üzüm suyunun besin değeri açısından önemli bir bileşendir. Üzüm suyu örneklerinin 21 günlük depolanması sürecinde toplam fenolik madde (TFM) miktarı Folin–Ciocalteu kolorimetrik metoduna göre yapılmış ve meydana gelen değişimler gallik asit eşdeğeri cinsinden mg/L olarak ortalamaları ve standart sapmaları eşliğinde Çizelge 4.5'de, depolama boyunca toplam fenolik madde değişim grafiği ise Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

Kontrol örneklerinde depolamanın ilk günü ölçülen değer 845 mg GAE/mL 'den 21. güne kadar ölçülen değerlerde düzenli bir artış göstermiş ve son gün toplam fenolik madde miktarı 945,83 mg GAE/mL olarak ölçülmüştür. Kontrol örneğinde depolama boyunca değişen TFM değerlerinde istatistiksel olarak önemli farklılık yoktur ($p>0.05$). Probiyotik bakteri ilave edilmemiş kontrol örneğiyle paralel bir sonuç göstererek LFÜS örneği de depolama boyunca 742,5 mg GAE/mL 'den 865,83 mg GAE/mL 'ye artış göstermiştir. LFÜS örneğinin 1.günü ile diğer günler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık tespit edilmiştir ($p<0.05$). Depolama boyunca TFM'deki artış miktarları kontrol örneğinde %12 ve LFÜS örneğinde %15,26 olarak belirlenmiştir. *L. fermentum*'lu üzüm suyu örneklerinde artış olmuştur bu durum probiyotik bakteriler tarafından üretilen β -galaktozidaz, α -amilaz gibi enzimlerin şekerlerle bağlı formdaki fenolik glukozidleri serbest fenolik asitlere dönüştürme yeteneği ve dolayısıyla fenolik madde miktarını arttırmasından kaynaklanabilmektedir (Martins vd., 2011). *L. fermentum*'un β -galaktozidaz enzim aktivitesinin yüksek olma özelliği

bu durumu desteklemektedir. Çizelge 4.2’de LFÜS örneğinin brix değerleri incelendiğinde 1. ve 7. günlerdeki sonuçların diğer günlerden önemli ölçüde yüksek olması Çizelge 4.5’de TFM miktarının 14. güne kadar artış göstermesiyle örtüşmektedir.

L. acidophilus ilave edilmiş üzüm suyu örnekleri ise 995 mg GAE/mL ’den 855,83 mg GAE/mL ’ye azalma göstermiştir. 1. gün 995 mg GAE/mL sonucu ile 7.gün 782,5 mg GAE/mL sonucu arasında önemli bir farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Yoğun konsantrasyonlu probiyotik bakterilerin metabolizmaları fenolik bileşenleri enzimler ve kimyasal reaksiyonlarla parçaladığı bilinmektedir (Hashemi vd., 2017). Çalışmamızda Çizelge 4.1’de probiyotik bakteri canlılıklarında görüldüğü gibi 14. güne kadar bir yoğunluk olmuştur. LAÜS örneğinin depolama boyunca toplam fenolik madde miktarının azalma eğiliminin, fenolik bileşiklerin soğuk depolama esnasında polimerize olmalarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. LAÜS örneğinin fenolik madde kaybına rağmen %85’inden fazlasını koruduğu görülmektedir.

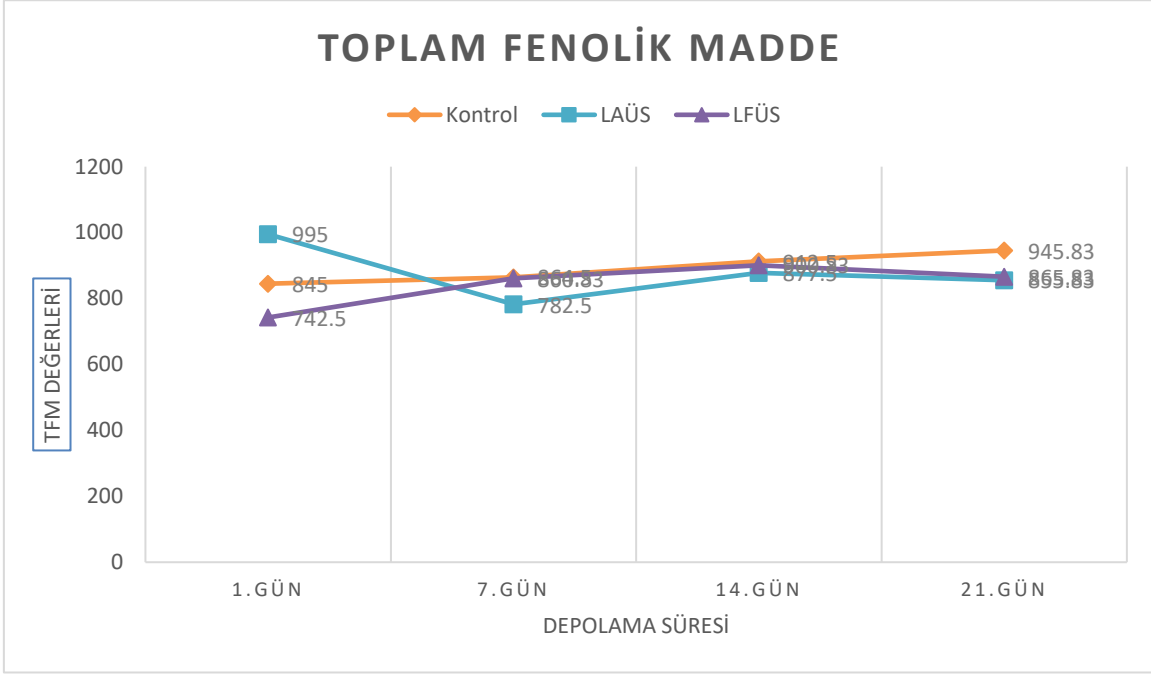
İkili karşılaştırma sonucunda 1.gün LAÜS ve LFÜS örnekleri arasında önemli bir farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer günlerde ise LAÜS ve LFÜS grupları arası istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Probiyotik bakteri ilavesinin TFM miktarı üzerinde önemli bir etkisi bulunmamaktadır.

Çizelge 4.5. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca toplam fenolik madde ölçüm değerleri (mg GAE/mL)

Üzüm Suyu Örnekleri	1.gün	7.gün	14.gün	21.gün
Kontrol	845,00±65,57 ^{a,B}	864,50±45,53 ^{a,A}	912,50±35,00 ^{a,A}	945,83±63,31 ^{a,A}
LAÜS	995,00±36,05 ^{a,A}	782,50±36,05 ^{c,A}	877,50±31,22 ^{b,A}	855,83±28,86 ^{bc,A}

LFÜS	742,50±25,00 ^{b,B}	860,83±14,43 ^{a,A}	900,83±24,66 ^{a,A}	865,83±44,81 ^{a,A}
------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------

Aynı sütunda yer alan büyük harfler (A,B) her bir üzüm suyu örneği arasındaki depolama süresince istatistiksel farklılığının, Aynı satırda yer alan küçük harfler (a,b,c) ise örneklerin günler arası istatistiksel farklılığının karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık ($p < 0.05$) olduğunu, aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadığını göstermektedir ($p > 0.05$). LAÜS: *Lactobacillus acidophilus* eklenmiş üzüm suyu, LFÜS: *Lactobacillus fermentum* eklenmiş üzüm suyu.



Şekil 4.9. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince toplam fenolik madde değişimi (mg GAE/mL)

Yapılan bir çalışmada fermente edilmiş ve fermente edilmemiş limon suyu içerisine ilave edilen *L. plantarum* örneklerinde toplam fenolik madde değerlerinin depolama boyunca düşme eğiliminde olduğu görülmüştür. Depolama boyunca meydana gelen düşme eğiliminin, depolama başlangıcında üründe daha yoğun konsantrasyonda bulunan probiyotik bakterilerin metabolizmaları sonucunda oluşabileceği ve fenolik bileşenlerin enzimler ve kimyasal reaksiyonlarla parçalanabileceği düşünülmektedir (Hashemi vd., 2017).

Campos vd., (2019), yaptıkları çalışmada probiyotik özellikleri bilinen *L. rhamnosus* GG ilave ettikleri juçara-ananas suyu karışımını 8 °C 'de 28 gün depolamışlardır. Toplam fenolik madde miktarı başlangıçta 2510,1 mg GAE/100 ml iken depolama sonunda 1978,3 mg GAE/100 ml değerine düştüğünü gözlemlemişlerdir. Düşük pH değerindeki meyve sularında bulunan fenolik bileşenlerin ko-pigmentasyonunun, ortamın asitleştirilmesiyle desteklendiği ve yüksek pH değerine sahip meyve sularına göre daha kolay ve hızlı parçalandığını ifade

etmişlerdir. Mevcut çalışmada depolama boyunca LAÜS örneği pH değerleri 3,49-3,44 arasında düşüş göstermiş ve toplam fenolik bileşik miktarı başlangıca kıyasla %14 oranında kayba uğramıştır.

Yapılan çalışmalar, farklı probiyotik meyve sularında depolama süresi boyunca örneklerin fenolik madde miktarlarında artmalar olabildiğini de göstermektedir. Fenolik öncül maddelerinin depolama sürecinde meydana gelen bazı değişikliklerle birlikte fenolik maddelere dönüştüğü bildirilmektedir (Martins vd., 2011). Çalışmamızda da *L. fermentum* ilaveli üzüm suyu örneğinde depolama boyunca TFM miktarında artış olmuştur.

Yapılan bir çalışmada *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine ait kültürlerin β -galaktozidaz enzim aktiviteleri incelendiğinde en yüksek enzim aktivitesine *L. fermentum* ZYN17 suşu olduğu belirlenmiştir. β -galaktozidazı arttırmak için ortamdaki şeker miktarının etkili olduğunu bildirmiştir (Kılıç, 2013). Çalışmamızdaki *L. fermentum* ilaveli örnekteki TFM artışı enzim aktivitesinden kaynaklanabilmektedir.

Karpuz suyuna probiyotik bakteri inoküle edilip fermentasyona tabi tutulduğu bir çalışmada, toplam fenolik madde miktarı fermentasyon sonunda başlangıca göre önemli artış göstermiştir ($p<0.05$). Toplam fenolik madde miktarının fermentasyonun etkisiyle birlikte artmasını laktik asit bakterilerinin faaliyetleri ile ilişkilendirmişlerdir (Oruç ve Çakır, 2019).

Başka bir çalışmada Miranda vd., (2019), *L. casei* bakterisinin farklı formlarını ilave ettikleri portakal suyu örneklerinde 7 °C'de 4 haftalık depolama süresi boyunca toplam fenolik madde miktarı 453,6 ile 567 mg GAE/L değerleri arasında artış göstermiştir. Çalışmamıza benzer olarak örnekler arası artış görülürken istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Depolama boyunca cam şişe kullanımının ve düşük sıcaklıkta (7 °C) depolamanın fenolik madde miktarının korunmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızla benzerlik göstererek üzüm suları cam şişede ve buzdolabı sıcaklığında (4 °C) depolanmıştır.

Davalos ve ark. (2005)'de yaptığı bir çalışmada konsantre ve sıkılmış kırmızı üzüm sularında toplam fenolik madde miktarlarının gallik asit cinsinden 705-1177 mg/L arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda literatür bulgularıyla paralel olarak 21 günlük depolama boyunca üzüm suyu örneklerinde TFM miktarı 772,5-1005,0 mg GAE/mL değerleri arasında bulunmuştur.

4.2.5. Üzüm Suyu Örneklerinin Reoloji Değerleri

Üzüm suyu örneklerinin depolanma sürecinin 1. ve 21. günündeki viskozite değerleri Pa.s cinsinden ortalamaları ve standart sapmaları eşliğinde Çizelge 4.6'da, depolama boyunca viskozite değişim grafiği ise Şekil 4.13'de gösterilmiştir.

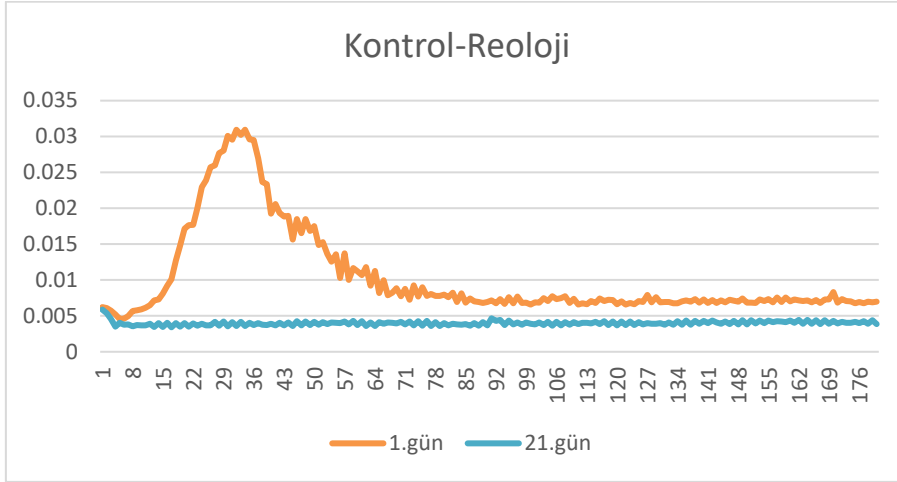
Çalışma boyunca elde edilen tüm sonuçlar incelendiğinde viskozite değerlerinin 0,0035 Pa.s ile 0,0070 Pa.s arasında değişim gösterdiği gözlenmiştir. En yüksek ve en düşük değerler LFÜS örneğinde gözlenmiştir ve depolama boyunca istatistiksel olarak önemli farklılık saptanmıştır ($p<0.05$). Bakteri canlılığıyla viskozite değerleri kıyaslandığında depolama boyunca canlılığın artması bakterilerin üzüm suyu içerisindeki karbonhidratları kullanarak brix değerini düşürmesi sonucunda viskozite değerinin düşmesi ilişkilendirilebilir. Tüm örneklerin depolama boyunca viskozite değerlerinde düşüş gözlenmiştir. Gruplar arası ikili karşılaştırma yapıldığında kontrol örneğiyle LAÜS örneği arasında depolama sonunda önemli bir farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). LAÜS örneğinin probiyotik bakteri canlılık seviyesinin yüksek olmasının viskozite değerinin daha yüksek olmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Genel anlamda tüm sonuçlara bakıldığında depolama süresinin ve eklenen bakteri çeşidinin üzüm suyunun viskozitesi üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Depolama boyunca ölçülen viskozite eğrileri Şekil 4.10, 4.11 ve 4.12'de verilmiştir.

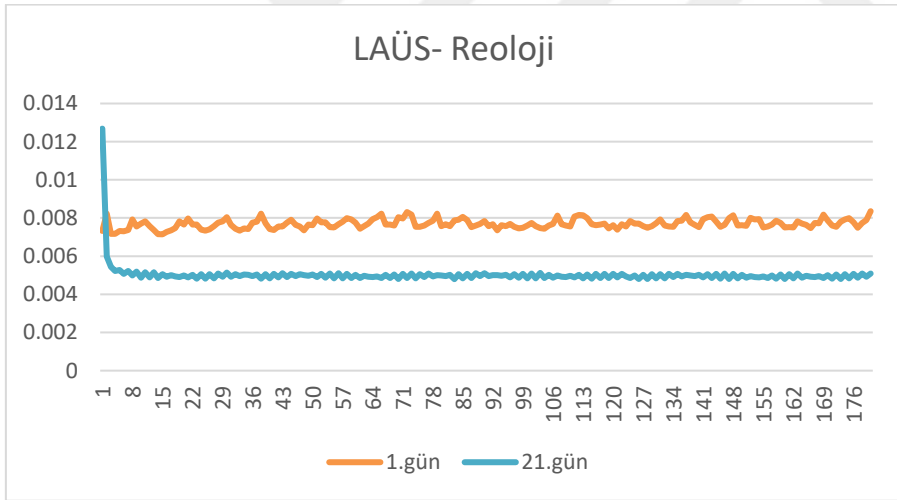
Çizelge 4.6. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca reoloji ölçüm değerleri (Pa.s)

Üzüm Suyu Örnekleri	1.gün	21.gün
Kontrol	0,0065±0,00 ^{a,A}	0,0036±0,00 ^{b,B}
LAÜS	0,0070±0,00 ^{a,A}	0,0050±0,00 ^{b,A}
LFÜS	0,0070±0,00 ^{a,A}	0,0035±0,00 ^{b,B}

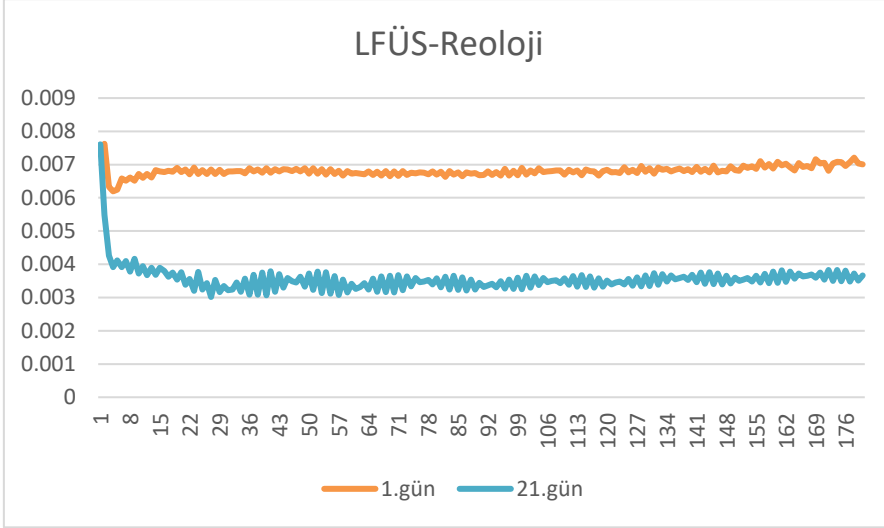
Aynı sütunda yer alan büyük harfler (A,B) her bir üzüm suyu örneği arasındaki depolama süresince istatistiksel farklılığının, Aynı satırda yer alan küçük harfler (a,b) ise örneklerin günler arası istatistiksel farklılığının karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık ($p < 0.05$) olduğunu, aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadığını göstermektedir ($p > 0.05$). LAÜS: *Lactobacillus acidophilus* eklenmiş üzüm suyu, LFÜS: *Lactobacillus fermentum* eklenmiş üzüm suyu.



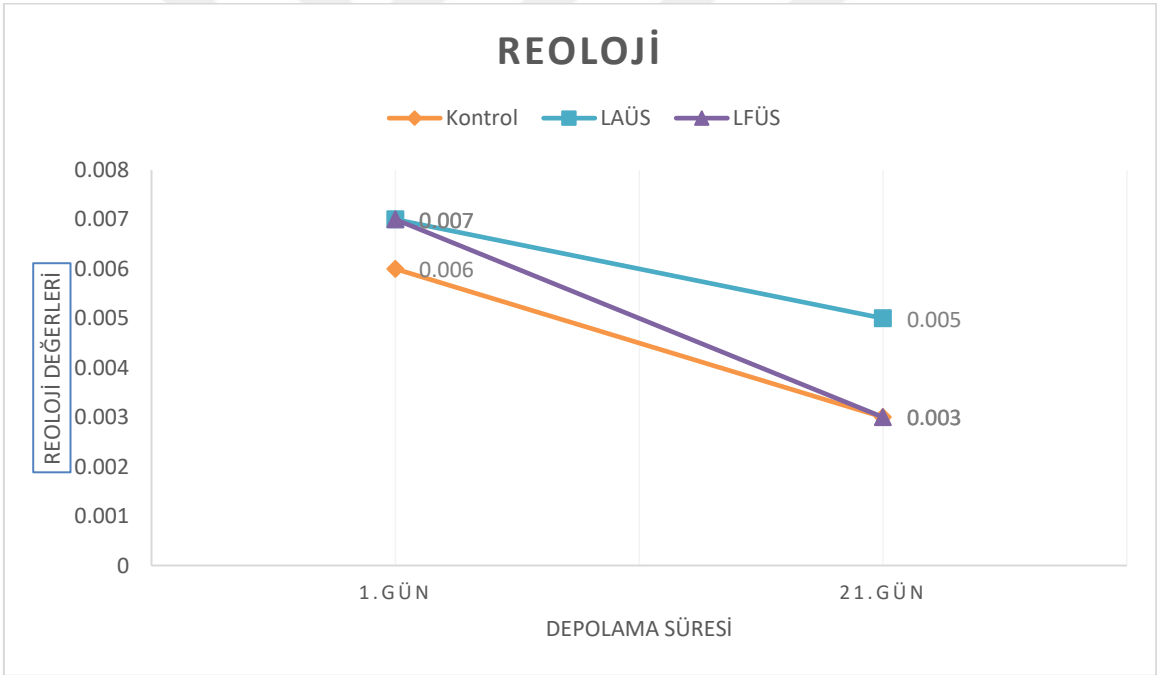
Şekil 4.10. Kontrol örneklerinin depolama boyunca ölçülen viskozite eğrileri



Şekil 4.11. LAÜS örneklerinin depolama boyunca ölçülen viskozite eğrileri



Şekil 4.12. LFÜS örneklerinin depolama boyunca ölçülen viskozite eğrileri



Şekil 4.13. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince reoloji değişimi (Pa.s)

Yapılan bir çalışmada farklı metodolojilerle *L. casei* ilave edilmiş portakal suyunun 7 °C'de 28 günlük depolama süresinde viskozite değerleri azalmasına rağmen önemli bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Psödoplastik sıvıların zamanla deformasyona uğraması viskozitenin azalması ile ilişkilendirilmektedir (Miranda vd., 2019).

Başka bir çalışmada Garcia vd., (2018) elma suyuna ilave ettikleri probiyotik *Lactobacillus* suşlarını 4 °C’de 21 gün depolamışlardır. Depolama süresince *L. plantarum* 49, *L. brevis* 59 ve *L. fermentum* 111 ilaveli örneklerde viskozitede artma gözlenirken ($p<0.05$) *L. paracasei* 108 ve *L. pentosus* 129 ilaveli örneklerde viskozitede azalma gözlenmiştir ($p<0.05$).

4.2.6. Üzüm Suyu Örneklerinin Renk Değerleri

Bir gıdanın kabul edilebilirliği ve kalitesi hakkındaki ilk yargı genel olarak rengiyle ilişkilendirilmektedir. Proses ve depolama süresince meydana gelen renk değişimlerine dikkat edilmelidir (Acar vd., 2006). Çalışmamızdaki üzüm suyu örneklerinin renk değerleri Çizelge 4.7, 4.8 ve 4.9’da incelenmiştir.

4.2.6.1. L* değerleri

L* değeri renk parlaklığını/aydınlığını göstermekte ve değeri 0-100 aralığında değişmektedir. Üzüm suyu örneklerinin depolanma sürecinin 1. ve 21. günündeki L* değerlerini ile birlikte Çizelge 4.7 ’de, depolama boyunca L* değerlerinin değişim grafiği ise Şekil 4.14’de gösterilmiştir.

Probiyotik bakteri ilave edilmemiş kontrol örneğinde L* değeri 1. gün 21,21 iken depolanmanın 21. günü ölçülen değer 18,24’tür. LFÜS örneğinin ise L* değerinin 11,22-11,06 aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Depolama süresinin uzamasının etkisiyle parlaklık düzeyinde kayıpların olduğu ancak bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$).

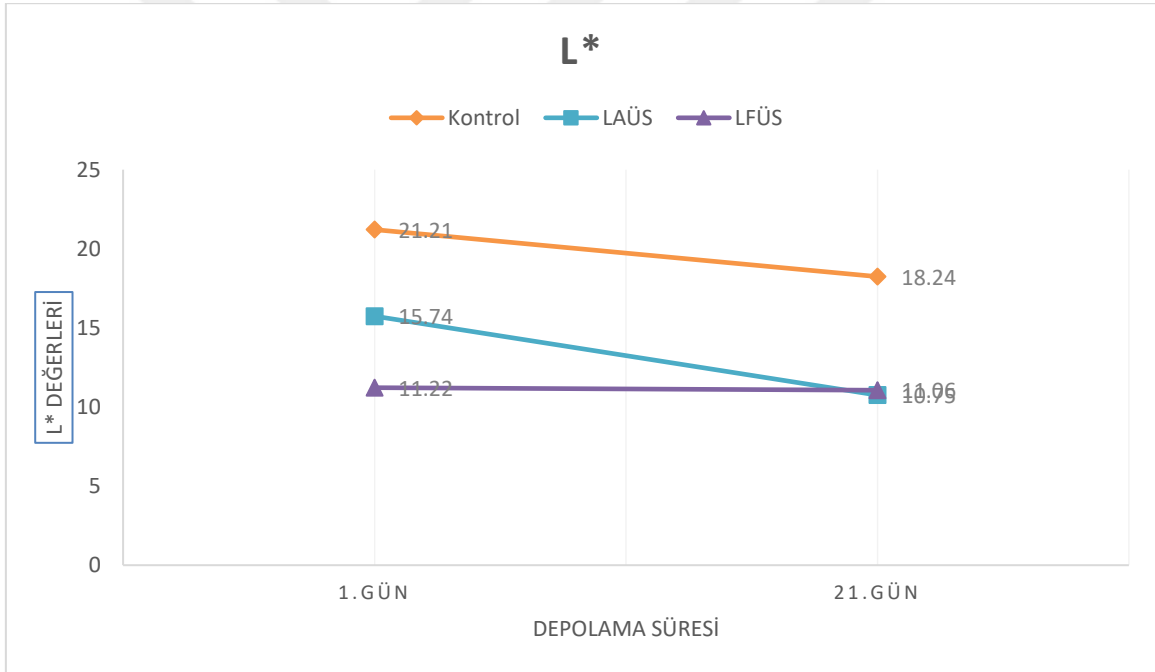
LAÜS örneğinin L* değeri 15,74-10,75 aralığında düşüş gösterdiği tespit edilmiştir. Parlaklık değerinde depolama süresinin uzamasına bağlı olarak azalma olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Kontrol grubu üzüm suyu örneğinin (18,24), içerisinde *L. fermentum* bulunan üzüm suyu örneğinden (11,06) ve *L. acidophilus* bulunan üzüm suyu örneğinden (10,75) çok daha berrak bir görüntüde olduğu görülmüştür. Probiyotik bakteri ilave edilmesinin ve bakteri türünün üzüm suyu örneklerinin L* değeri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık oluşturduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Probiyotik bakteri ilavesinin üzüm suyu örneklerinin renginde, probiyotik bakteri ilave edilmemiş örneğe göre daha mat bir görünüm oluşturmakta etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.7. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca renk değerleri (L*)

Üzüm Suyu Örnekleri	1.gün	21.gün
Kontrol	21,21±0,00 ^{a,A}	18,24±0,03 ^{a,A}
LAÜS	15,74±0,01 ^{b,B}	10,75±0,04 ^{c,BC}
LFÜS	11,22±0,02 ^{c,C}	11,06±0,02 ^{c,C}

Aynı sütunda yer alan büyük harfler (A,B,C) her bir üzüm suyu örneği arasındaki depolama süresince istatistiksel farklılığının, Aynı satırda yer alan küçük harfler (a,b,c) ise örneklerin günler arası istatistiksel farklılığının karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık ($p<0.05$) olduğunu, aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadığını göstermektedir ($p>0.05$). LAÜS: *Lactobacillus acidophilus* eklenmiş üzüm suyu, LFÜS: *Lactobacillus fermentum* eklenmiş üzüm suyu.



Şekil 4.14. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince renk (L*) değişimi

Moreira vd., (2017), yaptığı çalışmada Juçara ve mango suyu karışımına *L. rhamnosus* GG ilave ederek probiyotik özellik kazandırılmış meyvenin kalite parametrelerini 4 °C’de 30 gün depolama sürecinde takip etmişlerdir. Renk parametreleri incelendiğinde L* (parlaklık) değerinde azalma eğilimi gözlemlenmiştir. L* değerlerinde gözlenen bu azalmanın nedenini gıdalardaki karararma reaksiyonlarıyla ve renk pigmentlerinin depolama süresince yıkıma uğramasıyla ilişkilendirmişlerdir. Bununla birlikte ürüne ilave edilen probiyotik bakteri kültürlerinin de meyve suyu örneklerinin görüntüsünde hafif bulanıklıklar meydana

getirebileceği düşünülmektedir. Literatür bulgularının mevcut çalışma ile benzerlik gösterdiği görülmektedir.

Khoo ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada, Antosiyanin pigmentinin asidik koşullarda daha kırmızı görüldüğünü ve pH düşüşünün kırmızı rengini daha kararlı hale getirdiğini bildirmişlerdir. Çalışma verilerimiz incelendiğinde depolama boyunca pH değerlerinde düşüş gözlenmesine rağmen probiyotik bakteri ilave edilmiş üzüm suyu örneklerinde renk hasarı olduğu görülmektedir. Bunun sebebi olarak probiyotik bakteri canlılık seviyelerindeki artışın üzüm suyundaki bulanıklığı arttırmasıyla L* değerinde azalmaya sebep olduğu düşünülmüştür. Bu sebeple üzüm suyundan ışık geçişinin azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2.6.2. a* değerleri

a* değeri; renkteki yeşilden kırmızıya değişimi göstermekte ve değeri -120 ile 120 arasında değişmektedir. Depolama süresi boyunca örnek grupların a* değerleri pozitif çıkarak kırmızı rengi temsil ettiği görülmektedir. Üzüm suyu örneklerinin depolanma sürecinin 1. ve 21. günündeki a* değeri ortalamaları ve standart sapmaları ile birlikte Çizelge 4.8’de, depolama boyunca a* değerlerinin değişim grafiği ise Şekil 4.15’de gösterilmiştir.

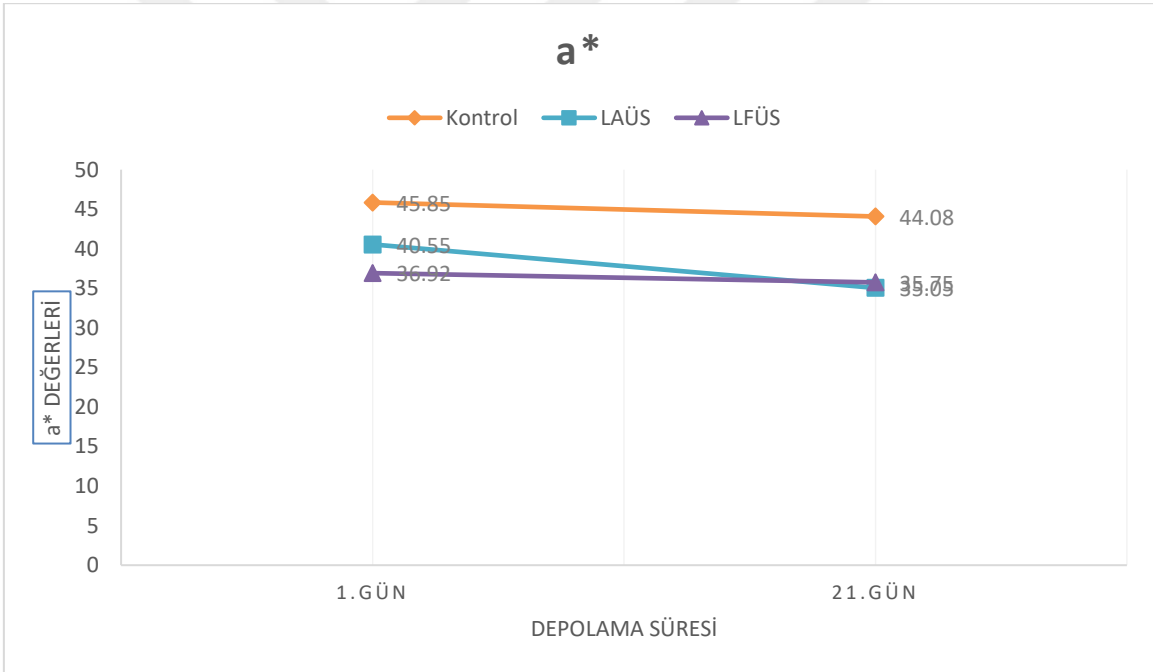
Probiyotik bakteri ilave edilmemiş kontrol örneği depolamanın ilk ve son gününde yapılan analiz sonuçlarına göre 45,85-44,08 değerleri arasında düşüş göstermiştir. Ancak bu değişimin istatistiksel olarak önemli ($p>0.05$) olmadığı belirlenmiştir.

LAÜS örneği depolamanın 1. ve 21. gününde yapılan analiz sonuçlarına göre 40,55-35,05 değerleri arasında düşüş gözlenmiş ve istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). LFÜS örneğinde ölçülen değişimin ise istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). Depolama sonunda üzüm suyu örneklerinde ikili karşılaştırma yapıldığında kontrol örneği ile probiyotik bakteri ilave edilmiş örnekler arasında önemli fark tespit edilmiştir ($p<0.05$). Genel olarak tüm üzüm suyu örneklerinde a* (kırmızılık) değerinde düşüş gözlenmiştir. Probiyotik bakterilerin zamanla kırmızı renk içeren besin maddelerini metabolize etmesiyle a* değerinin düştüğü düşünülmektedir. Probiyotik bakteri ilave edilmesinin a* değeri üzerinde etkili olduğu ve kontrol örneğinin daha kırmızı olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.8. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca renk değerleri (a*)

Üzüm Suyu Örnekleri	1.gün	21.gün
Kontrol	45,85±0,02 ^{a,AB}	44,08±0,03 ^{a,AB}
LAÜS	40,55±0,01 ^{b,BC}	35,05±0,01 ^{c,C}
LFÜS	36,92±0,04 ^{c,AC}	35,76±0,02 ^{c,C}

Aynı sütunda yer alan büyük harfler (A,B,C) her bir üzüm suyu örneği arasındaki depolama süresince istatistiksel farklılığının, Aynı satırda yer alan küçük harfler (a,b,c) ise örneklerin günler arası istatistiksel farklılığının karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık ($p<0.05$) olduğunu, aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadığını göstermektedir ($p>0.05$). LAÜS: *Lactobacillus acidophilus* eklenmiş üzüm suyu, LFÜS: *Lactobacillus fermentum* eklenmiş üzüm suyu.



Şekil 4.15. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince renk (a*) değişimi

Yapılan bir çalışmada *L. casei* bakterisi ilave edilerek fermente edilen çeşitli sebze sularının 4°C'de 42 gün boyunca depolanması süresince renk değerlerindeki değişimleri incelenmiştir. Probiyotik kültür ilaveli karnabahar suyunun a* değerleri depolamanın başlangıcında -2.23 olarak ölçülmüş, depolama sonunda ise -1.18 olarak ölçülmüştür. Depolama boyunca *L. casei* ile fermente edilen karnabahar suyunun a* değerlerinde başlangıçtan itibaren görülen azalmanın etkili olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Aynı çalışmada beyaz lahana suyunun depolanma boyunca ölçülen a* değerleri başlangıçta -3.40

olarak ölçülmüşken depolama sonunda -2.85 olarak ölçülmüştür. Depolama süresinin, *L. casei* ile fermente edilen beyaz lahana suyu örnekleri üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Fadhıl, 2015).

4.2.6.3. b* değerleri

b* değeri (+) ise sarı, (-) olduğunda ise mavi rengi göstermektedir, depolama boyunca ölçülen pozitif sonuçlar üzüm suyu örneklerinin içerisinde sarı renk miktarını göstermektedir. Üzüm suyu örneklerinin depolanma sürecinin 1. ve 21. gününde ölçülen b* değerlerinin sonuçları ile birlikte Çizelge 4.9 'da, depolama boyunca b* değerlerinin değişim grafiği ise Şekil 4.16'da gösterilmiştir.

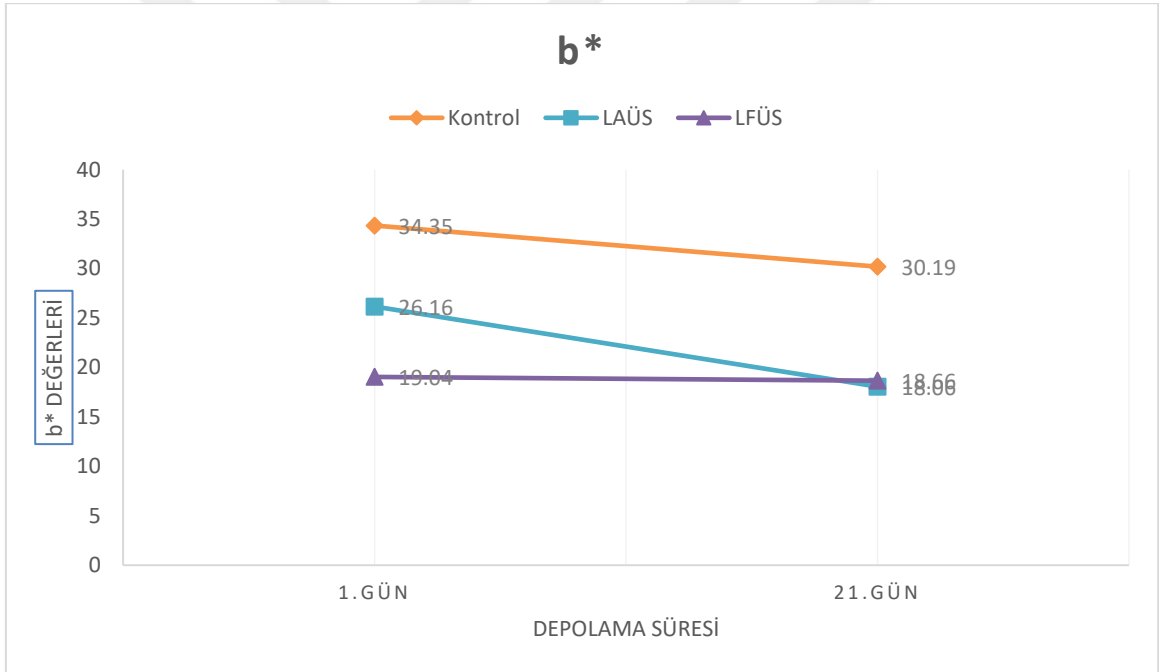
Çalışma boyunca tüm sonuçlar incelendiğinde b* değerlerinin 34,35 ile 18,06 arasında değiştiği görülmüştür. Kontrol örneğine göre probiyotik bakteri ilave edilmiş diğer iki grubun b* değerlerinin daha düşük olduğu gözlenmiştir. En düşük değeri 21. günde LAÜS örneği (18,06) göstermiştir. LAÜS, LFÜS ve Kontrol grubu örneklerinin 1. gün yapılan ölçüm sonuçlarına bakıldığında gruplar arası önemli bir farklılık olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Depolama sonunda üzüm suyu örneklerinde ikili karşılaştırma yapıldığında kontrol örneği ile probiyotik bakteri ilave edilmiş örnekler arasında önemli fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Genel olarak sonuçlar incelendiğinde tüm örneklerin b* değerleri depolama süresince azalış göstermiştir ve üzüm suyu içerisindeki renk maddelerindeki enzimatik kararmadan dolayı olduğu düşünülmüştür. Depolama süresinin ve bakteri çeşidinin b* değeri üzerinde etkisi olduğu söylenebilmektedir.

Çizelge 4.9. Üzüm suyu örneklerinin depolama boyunca renk değerleri (b*)

Üzüm Suyu Örnekleri	1.gün	21.gün
Kontrol	34,35±0,05 ^{a,AB}	30,19±0,06 ^{b,AB}
LAÜS	26,16±0,04 ^{a,BC}	18,06±0,02 ^{b,C}
LFÜS	19,04±0,05 ^{a,AC}	18,66±0,04 ^{a,C}

Aynı sütunda yer alan büyük harfler (A,B,C) her bir üzüm suyu örneği arasındaki depolama süresince istatistiksel farklılığının, Aynı satırda yer alan küçük harfler (a,b,c) ise örneklerin günler arası istatistiksel farklılığınının karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık ($p < 0.05$) olduğunu, aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadığını göstermektedir ($p > 0.05$). LAÜS: *Lactobacillus acidophilus* eklenmiş üzüm suyu, LFÜS: *Lactobacillus fermentum* eklenmiş üzüm suyu.



Şekil 4.16. Üzüm suyu örneklerinde depolama süresince renk (b*) değişimi

Garcia vd. (2018) yaptıkları bir çalışmada üzüm suyuna ilave ettikleri probiyotik lactobacillus suşlarını 4 °C’de 21 gün depolamışlardır. Depolama süresince izlenen üzüm sularında b* değerinde azalma gözlenmiştir. Üzüm suyu örneklerindeki renk değişimini, içerisindeki antosiyanin ve karotenoidler gibi pigmentlerin oksidasyonu ile meydana gelen enzimatik kararma ile ilişkilendirmişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu tez çalışmasında, üzüm suyuna ilave edilmiş probiyotik kültürlerle elde edilen fonksiyonel içeceklerin depolama süresinin 1., 7., 14., ve 21. günlerinde çeşitli analizleri yapılarak araştırılmıştır. İçeceklerin; fizikokimyasal (pH, asitlik, fenolik madde, renk, brix ve reoloji) ve mikrobiyolojik analizleri sonuçları şöyle özetlenmiştir.

Üzüm suyu örneklerine ilave edilen *L. acidophilus DSM 20079* suşu depolama süresinin ilk gününden 14. gününe kadar her iki bakteri örneği de artış gösterirken 21. güne doğru %7,7 oranında düşüş göstererek 2×10^7 kob/mL değerine ulaşmıştır. *L. fermentum CECT 5716* suşu ise %7,6 oranında düşüş göstererek $1,6 \times 10^7$ kob/mL değerine ulaşmıştır. Ancak her iki bakteri çeşidinin ilave edildiği örneklerde de depolama sonundaki probiyotik bakterilerin sayısı 10^7 kob/mL değerlerinde bulunmuştur. Üzüm suyunun probiyotik bakterilerin canlılığı için uygun bir taşıyıcı gıda matrisi olabileceğini göstermektedir. Probiyotik ürünlerin konak canlı üzerinde fayda sağlayabilmesi için bakteri popülasyonunun en az 1×10^6 kob/mL değerinde olması gerektiği bilinmektedir. Üzüm suyu örneklerinde probiyotik bakteri miktarının stabilitesini korunduğu görülmektedir.

Çalışma sonucunda brix değerlerinde; içerisinde probiyotik bakteri bulunmayan kontrol örneğinin ve LAÜS örneğinin depolama boyunca brix değerleri artmıştır. LFÜS örneğinde ise azalış gözlenmiştir. Brix değerlerindeki azalış ve artış meyve suyunda bulunan probiyotik bakterilerin kuru madde içeriğindeki şekerleri kullanarak metabolizmaları için substrat olarak kullanma kabiliyetiyle ilişkilendirilebilir (Garcia vd.,2018). Depolama süresinin ve bakteri çeşidinin brix değeri üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir.

Hazırlanan üzüm suyu örneklerinde pH değerleri 3,42 ile 3,64 arasında değişim göstermiştir. Depolama boyunca tüm örneklerde çok az miktarda düşüş gözlenmiştir. pH değerindeki düşüş bakteri sayısındaki artıştan kaynaklanmaktadır. Probiyotik bakteri sayısındaki artış metabolizma faaliyetlerini arttırmış ve ortamdaki organik asit miktarı yükselmiştir. Hazırlanan içeceklerde depolama süresinin ve bakteri çeşidinin istatistiksel olarak önemli bir farklılık oluşturmadığı ($p > 0.05$) tespit edilmiştir.

Üzüm suyu örneklerinde % titrasyon asitliği sonuçlarına bakıldığında LAÜS ve LFÜS örneklerinde ilk güne göre artış görülmüştür, istatistiksel olarak LAÜS ve LFÜS örneklerinin 7.

gün ile 14. ve 21. günler arasında önemli farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). Bu durum pH değerindeki düşüş ile bağlantılıdır. Probiyotik suşlarının canlılık seviyelerindeki artışın organik asit miktarını arttırmasıyla titrasyon değerleri artmıştır. Böylece % asitlik değerlerindeki artışın probiyotik bakterilerle ilişkili olduğu gözlenmiştir. Bakteri çeşitlerinin asitlik üzerine istatistiksel olarak önemli bir etkisinin olduğu saptanmıştır.

Üzüm suyu örneklerinde toplam fenolik madde miktarlarına bakıldığında kontrol ve LFÜS gruplarında artış gözlenirken LAÜS örneklerinde ise depolama başlangıcında 995 mg GAE/mL ölçülen toplam fenolik madde miktarı depolama sonunda 855,83 mg GAE/mL miktarına düşmüştür. Yoğun konsantrasyonlu probiyotik bakterilerin metabolizmalarının fenolik bileşenleri parçalamasından kaynaklı TFM miktarında düşüş olabilmektedir (Hashemi vd., 2017). LAÜS örneğinin fenolik madde kaybına rağmen %85'inden fazlasını koruduğu görülmektedir. *L. fermentum*'lu üzüm suyu örneklerinde artış olmuştur bu durum probiyotik bakteriler tarafından üretilen β -D-galaktozidaz, α -amilaz gibi enzimlerin şekerlerle bağlı formdaki fenolik glukozidleri serbest fenolik asitlere dönüştürme yeteneği ve dolayısıyla fenolik madde miktarını arttırmasından kaynaklanabilmektedir (Martins vd., 2011).

Reoloji sonuçları incelendiğinde 1. ve 21. gün takibi sonrası içerisinde probiyotik bakteri bulunmayan kontrol örneği, LAÜS ve LFÜS örneklerinde azalış gözlenmiştir ve depolama boyunca istatistiksel olarak önemli bir farklılık olduğunu ifade etmektedir ($p<0.05$). Hazırlanan içeceklerde bakteri çeşidinin viskozite değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli farklılık oluşturmadığı ($p>0.05$) tespit edilmiştir.

Üzüm suyu içeceklerinin L^* (parlaklık) değerlerinin 1. ve 21. günlerde yapılan analiz sonuçlarına göre tüm grupların başlangıç değerine göre depolama sonunda değerlerinde düşüş gözlenmiştir. L^* değerlerinde gözlenen bu azalmanın nedenini gıdalardaki kararma reaksiyonlarıyla ve renk pigmentlerinin depolama süresince yıkıma uğramasından kaynaklanabilmektedir (Moreira vd., 2017). İçecek çeşitlerinin L^* değeri üzerinde depolama sonunda istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) etkisi gözlenmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde a^* değerleri (kırmızılık) tüm gruplarda ilk güne göre düşüş gözlenirken bakteri ilave edilmemiş kontrol örneğine kıyasla LAÜS ve LAÜF örneklerinin a^* değerleri daha düşüktür. Bakteri çeşidinin üzüm suyu örneklerinin a^* (kırmızılık) değeri üzerine istatistiksel olarak önemli bir farklılık oluşturduğu görülmektedir ($p<0.05$). İçeceklerin b^* (sarılık) değerlerine bakıldığında tüm gruplarda ilk güne göre düşüş gözlenirken kontrol

örneğine göre bakteri ilave yapılmış örneklerin değerlerinin daha düşük olduğu gözlenmiştir. Genel olarak sonuçlar incelendiğinde depolama süresinin ve bakteri çeşidinin b* değeri üzerinde önemli bir etkisinin olduğu söylenebilmektedir. Renk değerleri üzerinde üzüm suyunun içerisindeki antosiyanin ve karotenoidler gibi pigmentlerin oksidasyonu ile meydana gelen enzimatik kararmanın etkisi olduğu söylenebilmektedir.

Tüm kalite parametreleri ve canlılık seviyeleri göz önünde bulundurulduğunda *L. acidophilus* ve *L. fermentum* ilave edilmiş üzüm suyu içeceğinin geliştirilmesi konusunda umut vadettiği ve genel bulguların üzüm suyunun uygun bir gıda matrisi olacağı söylenebilmektedir.

5.2. Öneriler

Çalışma sonuçları incelendiğinde aşağıdaki önerilerin sunulabileceği düşünülmektedir;

- ❖ Marmara bölgesinde elverişli ve bol üretime sahip üzüm meyvesinin kullanım alanına alternatif olarak fonksiyonel ürün niteliğinde olabilecek probiyotik ilaveli üzüm suyu, üzümdeki yüksek antioksidan içeriğiyle probiyotik kültürlerin bağışıklık sistemini destekleyen sağlık yararlarının olumlu bir birleşimi olacağı ve özellikle salgın dönemlerinde immün sistemine dikkat eden tüketicilerin tercih sebebi olacağı düşünülmektedir.
- ❖ Gıda endüstrisinde kullanılan probiyotik bakterilerin, kullanılan gıda ile uyum sağlayıp canlılığını devam ettirebilmesinin takibi açısından sakorilitik faaliyetleri düşük, farklı probiyotik suşları ilave edilerek depolama boyunca üzüm suyunda canlılıkları takip edilebilir.
- ❖ Üzüm suyuna ilave edilen bakteri kültürlerinin depolama boyunca canlılığının azalmasını önlemek için probiyotik bakterilere uygulanan mikroenkapsülasyon tekniği, hücre koruyucu ajanların ilavesi ya da gelişimi teşvik edici prebiyotik gıda bileşenlerinin ilave edilmesi araştırılarak raf ömrü boyunca bakterilerin canlılığı üzerine çalışma yapılabilir.

- ❖ Probiyotik ilaveli üzüm suyu üretiminde üzüm meyvesinin doğal mikroflorasında bulunan laktik asit bakterilerinin varlığı tespit edilip tanımlandıktan sonra probiyotik özellikleri mevcut olan izolatlar ilave edilerek alternatif bir çalışma yapılabilir böylece kendi mikroflorasından olan bakterilerin depolama boyunca canlılık düzeylerinin daha iyi olacağı düşünülmektedir.
- ❖ Beslenme konusunda bilinçlenen tüketicilerin sağlıklı ürünlere karşı artan talebi ve süt ürünlerini bilinçli ya da zaruri sebeplerden dolayı tercih etmeyen vejetaryen-vegan tüketicilerin sürekli sayısının artması sebebiyle gıda endüstrisi probiyotik bakteri ilaveli meyve suyu üretimini arttırıcı çalışmaları daha da teşvik edebilir.
- ❖ Çalışmada 21 gün olarak belirlenen depolama süresi uzatılarak probiyotik bakterilerin canlılığı ve üzüm suyunun fizikokimyasal özellikleri incelenebilir.

6. KAYNAKLAR

- Acar J, Gökmen V, Us F, (2006). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Cilt 2, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 484p.
- Akan, E., & Kınık, Ö. (2015). Factors effecting probiotic viability during processing and storage of food. *Celal Bayar University Journal of Science*, 11(2), 155-166.
- Amanda, E. ve Choo, W. S. 2018. Effect of refrigerated storage on the physicochemical characteristics and viability of *Lactobacillus plantarum* in fermented watermelon juice with or without supplementation with inulin or fructooligosaccharide. *J Food Process Preserv.*, 2018;42:e13831.
- Amund, O.D. 2016. Exploring the relationship between exposure to technological and gastrointestinal stress and probiotic functional properties of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*. *Canadian Journal of Microbiology*, 62(9): 715-725.
- Anal, A. K., & Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*, 18(5), 240-251.
- Anonim 2009. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2009/25)
- Anonim 2011. Üzüm. Erişim Adresi: <https://tr.wikipedia.org/wiki/%C3%9Cz%C3%BCm>, [Erişim Tarihi: 10.09.2020]
- Anonim 2014. Türk Gıda Kodeksi Meyve Suyu Ve Benzeri Ürünler Tebliği, (Tebliğ No: 2014/34). Erişim Adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2014/08/20140806-17.htm>. [Erişim Tarihi: 17.09.2020.]
- Anonim 2017a. Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği Ek-6. Erişim Adresi: https://members.wto.org/crnattachments/2016/TBT/TUR/16_0109_00_x.pdf. [Erişim Tarihi: 15.09.2020.]
- Anonim 2019. Üzüm Değerlendirme Raporu. Erişim Adresi: <https://www.tarimorman.gov.tr>. [Erişim Tarihi: 18.09.2020.]
- B.S. Cemeroğlu, Gıda analizleri, 4. Baskı, Ankara, Türkiye; Bizim Grup Basımevi, 2018.

- Balkış, M. (2011). Lise Öğrencilerinin Beslenme Alışkanlıkları, Probiyotik Süt Ürünleri Tüketim Sıklıkları ve Bilgilerinin Belirlenmesi: Kulu Örneği, Selçuk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Konya.
- Bansal S, Mangal M, Sharma SK, Gupta RK. 2016. Non- dairy based probiotics: A healthy treat for intestine. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 56 (11): 1856-1867.
- Barat, A., & ÖZCAN, T. (2016). Fermente süt içeceğinde probiyotik bakterilerin gelişimi üzerine meyve ilavesinin etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 53(3), 259-267.
- Boyacı Gündüz, C.P. (2018). Molecular characterization of the predominant lactic acid bacteria and yeasts in the sourdough and chickpea fermentations and investigation of some lactic acid bacteria for potential starter culture usage. Phd thesis, Çukurova University Institute Of Natural And Applied Sciences.
- Cabaroğlu, T., & Yılmaztekin, M. (2006). Üzümün bileşimi ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Buldan Sempozyumu*, 23-24.
- Cemeroglu, B., Yemenicioğlu, A., ve Ozkan, M., Meyve ve Sebze Bileşimi, Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi (1. Cilt), Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 39, Bizim Grup Basımevi, Ankara, 2009.
- Chen, C., Lu, Y., Yu, H., Chen, Z., Tian, H., 2019. Influence of 4 lactic acid bacteria on the flavor profile of fermented apple juice influence of 4 lactic acid bacteria. *Food Bioscience*, 27: 30–36.
- Costa MGM, Fonteles TV, de Jesus ALT, Rodrigues S. 2013. Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: process optimisation and product stability. *Food Chemistry*, 139: 261–266.
- Çelik, H., Çelik, S., Kunter, B., Söylemezoğlu, G., Boz, Y., Özer, C., ve Atak, A. 2005. Bağcılıkta Gelişme ve Üretim Hedefleri. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi Bildirileri (1. Cilt): 565-588s. 3-7 Ocak 2005, Ankara.
- Çetin, E.S., Babalık, Z., Göktürk Baydar, N., 2012. Bazı sofralık üzüm çeşitlerinde tanelerdeki toplam karbonhidrat, fenolik madde, antosiyanin, β -karoten ve C vitamini içeriklerinin belirlenmesi. IV. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, 3-5 Ekim, 2012, Antalya, Türkiye, 151-159s.

- Davalos, A., Bartolome, B., Gomez Cordoves, C. 2005. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. *Food Chemistry* 93 (2): 325- 330.
- Dayısoylu, K. S., Gezginç, Y., & Cingöz, A. (2014). Fonksiyonel gıda mı, fonksiyonel bileşen mi? Gıdalarda fonksiyonellik. *Gıda Dergisi*, 39(1), 57-62.
- Delikanlı, B., & Özcan, T. (2014). Probiyotik içeren yenilebilir filmler ve kaplamalar. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 59-70.
- Dıblan, S. (2013). Kalecik karası üzümünden (Vitis vinifera L.) üretilen kırmızı üzüm suyunun çeşitli durultma yardımcı maddeleri ile durultulması ve durultmanın üzüm suyu rengi üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, s. 12-17.
- Doğan, M. Probiyotik bakterilerin etki mekanizması. *Anadolu Bil Meslek Yüksekokulu Dergisi*, (21), 98-104.
- Dölekoglu, C. O., Giray, F. H., & Sahin, A. Raflardaki Yeni Ürün Fonksiyonel Gıdalar ve Getirdikleri, 1. *Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi*, 5-7 Eylül 2012, 948-955.
- Ekşi, A. ve Akdağ, E. 2008. 2000'den 2007'ye Türkiye'de meyve suyu üretimi ve tüketimi.4 Mevsim Meyve Suyu, 6(2), 18-23.
- Fadhıl, Z. H. (2015). Çeşitli sebze sularının farklı probiyotik bakteriler için prebiyotik etkilerinin ve antioksidatif aktivitelerinin belirlenmesi, Yayınlanmış Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- FAO/WHO. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, London, Ontario. p. 413-426.
- Fijan, S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International journal of environmental research and public health*, 11(5), 4745-4767.
- Garcia, E. F., de Oliveira Araújo, A., Luciano, W. A., de Albuquerque, T. M. R., de Oliveira Arcanjo, N. M., Madruga, M. S., ... & de Souza, E. L. (2018). The performance of five fruit-derived and freeze-dried potentially probiotic Lactobacillus strains in apple, orange, and grape juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(13), 5000-5010.

- Gasbarrini, G., Bonvicini, F., & Gramenzi, A. (2016). Probiotics history. *Journal of clinical gastroenterology*, 50, S116-S119.
- Genç H. (2016). Nar Suyunda Ürün Özelliklerinin Geliştirilmesinde Probiyotik Bakterilerin Kullanımı, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
- Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararnamenin Değiştirilerek Kabulü Hakkında Kanun, kanun no;5179, 27.05.2004.
- Gibson, G.R., Hutkins, R., Sanders, M.E., Prescott, S.L., Reimer, R.A., Salminen, S.J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K.S., Cani, P.C., Verbeke, K., Reid, G. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8): 491–502. Gibson, G.R., Probert, H.M., V
- Gibson, G.R., Hutkins, R., Sanders, M.E., Prescott, S.L., Reimer, R.A., Salminen, S.J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K.S., Cani, P.C., Verbeke, K., Reid, G. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8): 491–502.
- Göral, B. S., & Gündüz, G. T. (2018). Use of Probiotic Microorganisms for Plant Based Food Products. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 6(12), 1741-1750.
- Gueimonde, M., Salminen, S., 2006. New methods for selecting and evaluating probiotics. *Digestive and Liver Disease*, 38(suppl. 2): 242–247.
- Gülbandılar, A., Mehtap, OKUR., & DÖNMEZ, M. (2017). Fonksiyonel gıda olarak kullanılan probiyotikler ve özellikleri. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 10(1), 44-47.
- Gülcü, M. (2008). “Durultma Yardımcı Maddelerinin Üzüm Suyu Kalitesi Üzerine Etkileri”, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırklareli, s. 1-3.
- Gülcü, M. (2012) Tekirdağ bağcılık araştırma istasyonu müdürlüğü. Üzüm suyu üretimi.
- Gülmez, M., Güven, A.,2002. Probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotikler, Kafkas Üniversitesi *Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8(1),83-89.
- Güven, E. (2018). “Sektör analizi; fonksiyonel gıdalar”, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya.

- Halkman A.K. (2013). Gıda Mikrobiyolojisi II ders notları. Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 89s.
- Hashemi, S. M. B., Khaneghah, A. M., Barba, F. J., Nemati, Z., Shokofti, S. S., & Alizadeh, F. (2017). Fermented sweet lemon juice (Citrus limetta) using *Lactobacillus plantarum* LS5: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Functional Foods*, 38, 409-414.
- Hasler CM. 2002. Functional foods: benefits, concerns and challenges – a position paper from the American Council on Science and Health. *J Nutr* 132: 37723781.
- Hunter, P.M., Hegele, A.R. 2017. Functional foods and dietary supplements for the management of dyslipidaemia. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 13(5): 278-288.
- Kanmani, P., Satish Kumar, R., Yuvaraj, N., Paari, K. a, Pattukumar, V., & Arul, V. (2013), Probiotics and its functionally valuable products-a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(6), 641–58.
- Karahançer, H. (2018). Üretiminde kullanılan *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum*'un beyaz peynirin bazı özellikleri üzerine etkilerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz üniversitesi, Antalya.
- Karimi, R., Mortazavian, A. M. ve Cruz, A. G. (2011). Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: A review. *Dairy Science & Technology*, 91, 283–308.
- Kaya, Y. (2020). Farklı kaynaklardan izole edilen laktik asit bakterilerinin (lab) probiyotik potansiyelinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Bayburt Üniversitesi, Bayburt.
- Kılıç, Y. (2013). *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* Cinsi Bakterilerin Beta Galaktosidaz Enzim Aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Klein, Günter (February 2011). "Antibiotic Resistance and Molecular Characterization of Probiotic and Clinical *Lactobacillus* Strains in Relation to Safety Aspects of Probiotics". *Foodborne Pathogens and Disease*. 8 (2): 267–281

- Kocabey, N. (2013) "Arapgir'de yetiştirilen karaoğlan ve aşık beyazı üzümlelerinden elde edilen şarapların fenol bileşikleri ve aroma maddelerinin belirlenmesi", Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, s. 11-18.
- Kutlu T. (2011). Prebiyotik ve Pobyotikler, Türk Ped. Arş. Özel Sayı: 59- 64.
- Liu, B., Zhang, J., Yi, R., Zhou, X., Long, X., Pan, Y., & Zhao, X. (2019). Preventive effect of *Lactobacillus fermentum* CQPC08 on 4-nitroquinoline-1-oxide induced tongue cancer in C57BL/6 mice. *Foods*, 8(3), 93. Probiotics in man and animals.
- Malganji S, Sohrabvandi S, Jahadi M, Nematollahi A, Sarmadi A. 2016. Effect of refrigerated storage on sensory properties and viability of probiotic in grape drink. *Appl Food Biotechnol.*, 3(1): 59-62.
- Mañé, J., Lorén, V., Pedrosa, E., Ojanguren, I., Xaus, J., Cabré, E., ... & Gassull, M. A. (2009). *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 prevents and reverts intestinal damage on TNBS-induced colitis in mice. *Inflammatory bowel diseases*, 15(8), 1155-1163.
- Martins, S., Mussatto, S.I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J. Aguilar, C. N. Teixeira, J. A. 2011. Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotech Adv*, 29: 365-373.
- Miranda, R. F., de Paula, M. M., da Costa, G. M., Barão, C. E., da Silva, A. C. R., Raices, R. S. L., & Pimentel, T. C. (2019). Orange juice added with *L. casei*: is there an impact of the probiotic addition methodology on the quality parameters?. *LWT*, 106, 186-193.
- Mokhtari, S., Jafari, S. M., & Khomeiri, M. (2019). Survival of encapsulated probiotics in pasteurized grape juice and evaluation of their properties during storage. *Food Science and Technology International*, 25(2), 120-129.
- Moreira, R. M., Martins, M. L., Júnior, B. R. D. C. L., Martins, E. M. F., Ramos, A. M., Cristianini, M., ... & de Oliveira, D. C. (2017). Development of a juçara and Ubá mango juice mixture with added *Lactobacillus rhamnosus* GG processed by high pressure. *LWT*, 77, 259-268.
- Mousavi, Z. E., Mousavi, S. M., Razavi, S. H., Emam-Djomeh, Z., & Kiani, H. (2011). Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(1), 123-128.

- Nematollahi, A., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M., Jazaeri, S., 2016. Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*, 21: 49– 53.
- Oruç S. ve Çakır İ. 2019. Probiyotik kültürlerle fermente karpuz suyu üretimi üzerine bir araştırma. *The journal of food*. 44 (6):1030-1041.
- Ozen, M., & Dinleyici, E. C. (2015). The history of probiotics: the untold story. *Beneficial microbes*, 6(2), 159-165.
- Pakbin, B., Razavi, S. H., Mahmoudi, R., & Gajarbeygi, P. (2014). Producing probiotic peach juice. *Biotechnology and health sciences*.
- Pan, D. D., Zeng, X. Q., & Yan, Y. T. (2011). Characterisation of *Lactobacillus fermentum* SM-7 isolated from koumiss, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(3), 512-518.
- Pimentel, T. C., Madrona, G. S., Garcia, S., & Prudencio, S. H. 2015. Probiotic viability, physicochemical characteristics and acceptability during refrigerated storage of clarified apple juice supplemented with lactobacillus paracasei ssp. paracasei and oligofructose in different package type. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1): 415–422.
- R. FULLER AFRC Institute of Food Research, Reading Laboratory, Shinjeld, Reading RG2 9AT. UK. *Journal of Applied Bacteriology* 1989, 66, 365-378.
- Reddy, Lebaka Veeranjaneya, Ju-Hee Min ve Young-Jung Wee. "Laktik asit bakterilerinin fermantasyonu ile probiyotik mango suyu üretimi." *Mikrobiyoloji ve Biyoteknoloji mektupları* 43.2 (2015): 120-125
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, JM ve Bressollier, P. (2013). Probiyotik ve prebiyotik alandaki son gelişmelere genel bir bakış. *LWT-Gıda Bilimi ve Teknolojisi* , 50 (1), 1-16.
- Shori AB. 2016. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Biosci.*, 13: 1–8.
- Shwartz, E., Glazer, I., Bar-ya'akov, I., Matityahu, I., Bar-ilan, I., Holland, D., Amir, R., (2008), Changes in chemical constituents during the maturation and ripening of Tao commercially important pomegranate accessions. *Food Chemistry*, 115:965–973.

- Silva, S. B., & Ferrari, J. (2016). Development of Probiotic Grape Juice and *Lactobacillus paracasei* Viability under Cold Storage. In *X CIGR Section IV International Technical Symposium, XXV Congresso Brasileiro de Ci?ncia e Tecnologia de Alimentos*.
- Siro, I., K?polna, E., K?polna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite*, 51(3), 456-467.
- Soyu?ok A., Kılı? G. (2017). S?t Kaynaklı Olmayan Probiyotik Bakteriler. *T?rk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi*.,5(12):1615-1625.
- Şeng?n, İ. Y., Kırmızıg?l, A., ?zaydın, İ., & Yarım, H. (2020). T?keticilerin probiyotik ve prebiyotik gıdalara y?nelik bilgi d?zeyleri ve t?ketim durumlarının belirlenmesi: izmir/bornova ?rneği. *GIDA/The Journal of FOOD*, 45(1).
- Taş, Y. D. (2012). *T?rkiye’de Fonksiyonel Gıdaların T?ketim Araştırmaları, ?r?n ?eşitliliği ve Yasal D?zenlemeler*, Hatay: T?rkiye 11. Gıda Kongresi.
- Thakur, M., & Sharma, R. K. (2017). Development of Probiotic Pomegranate Beverage and Its Physico-Chemical and Microbial Characterization. *Int. J. Pure App. Biosci*, 5(1), 35-41.
- Toprak, T. (2015). Probiyotik şerbet ?retimi ve bazı fonksiyonel ?zelliklerinin belirlenmesi, Yayınlanmış Y?ksek Lisans Tezi, Erciyes ?niversitesi, Kayseri.
- Totonchi, P., Hesari, J., Moradi, M., & FATHI, A. B. (2015). Production and evaluation of probiotic red grape juice by *Lactobacillus acidophilus* LA5, and *Lactobacillus casei*.
- Tripathi, M.K. ve Giri, S.K.P (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9,ka 225–241.
- ?nal, G., S. Fenderya, G. Ender, S. Akalın. (2017). Fonksiyonel s?t ?r?nlerinin beslenmemizdeki ?nemi, Ege ?niversitesi, İzmir.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., & Verstraete, W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and molecular biology reviews*, 64(4), 655-671.
- Vislocky, L. M., & Fernandez, M. L. (2013). Grapes and grape products: Their role in health. *Nutrition Today*, 48(1), 47-51.

Yapar, N. (2013). Geleneksel Fermente Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Meyve Suyundan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özellikleri ve Endüstriyel Üretimde Kullanımları, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Zhu, W., Lyu, F., Naumovski, N., Ajlouni, S., & Ranadheera, C. S. (2020). Functional Efficacy of Probiotic *Lactobacillus sanfranciscensis* in Apple, Orange and Tomato Juices with Special Reference to Storage Stability and In Vitro Gastrointestinal Survival. *Beverages*, 6(1), 13.



