

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ TİCARİ KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN
***Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*'NİN PROBİYOTİK**
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE DONDURMA
ÜRETİMİNDE KULLANIMI

Hamza GÖKTAŞ

DOKTORA TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman

Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ

Eş Danışman

Doç. Dr. Enes DERTLİ

Ocak, 2020

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ TİCARİ KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN
***Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*'NİN PROBİYOTİK**
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE DONDURMA
ÜRETİMİNDE KULLANIMI

Hamza GÖKTAŞ tarafından hazırlanan tez çalışması 00.00.2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Teknolojileri Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Doç. Dr. Enes DERTLİ
Yıldız Teknik Üniversitesi
Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Muhammet ARICI, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR, Üye
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Gökem ÖZÜLKÜ, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Tuncay GÜMÜŞ, Üye
Namık Kemal Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Çeşitli Ticari Kaynaklardan İzole Edilen *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*'nin Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Dondurma Üretiminde Kullanımı başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Hamza GÖKTAŞ

İmza

Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'nün FDK-2019-3633 numaralı projesi ile finanse edilmiştir. Hamza GÖKTAş YÖK 100/2000 Doktora Burs Programı ve TÜBİTAK 2211/C Yurtiçi Öncelikli Alanlar Burs Programları tarafından desteklenmiştir.

Biricik sözlüme,

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca maddi manevi desteklerini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ ve eşdanışman hocam Doç. Dr. Enes DERTLİ'ye en içten dileklerimle teşekkürlerimi sunarım.

Hamza GÖKTAŞ

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	ix
KISALTMA LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ	xii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.1.1 Fonksiyonel Gıdalar	1
1.1.2 Probiyotikler	2
1.1.3 Mayalar ve Probiyotik Bir Maya, <i>S. boulardii</i>	5
1.1.4 <i>S. boulardii</i> ile İlgili Yapılan Çalışmalar	10
1.2 Tezin Amacı	14
1.3 Hipotez	14
2 MATERYAL VE METOT	16
2.1 <i>S. boulardii</i> Suşlarının İzole Edilmesi	16
2.2 <i>S. boulardii</i> Suşlarının Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	18
2.2.1 Glukoz ve Galaktoz Fermantasyonu	18
2.2.2 Askospor Formasyonunun Belirlenmesi	18
2.3 <i>S. boulardii</i> Suşlarının Tanımlanması	19
2.3.1 DNA İzolasyonu	19
2.3.2 <i>S. boulardii</i> Suşlarının Mikrosatellit Amplifikasyonu	20
2.3.3 <i>S. boulardii</i> Suşlarının 26S rDNA Gen Sekansı ile Tanımlanması	20
2.3.4 PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Görüntülenmesi	20
2.3.5 FT-IR Spektroskopisi ile Tanımlama	22
2.4 Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi	22
2.4.1 Oto-agregasyon Yüzdesinin Belirlenmesi	22
2.4.2 Hücre Yüzey Hidrofobisitesinin Belirlenmesi	22
2.4.3 Düşük pH ve Safra Tuzu Toleransının Belirlenmesi	23

2.4.4	Gastrointestinal Koşullara Direncin Belirlenmesi.....	23
2.4.5	Antibiyotik Direncin Belirlenmesi.....	24
2.4.6	Antifungal Aktivitenin Belirlenmesi.....	25
2.4.7	Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi.....	25
2.5	Probiyotik Dondurma Üretim Prosesi.....	26
2.5.1	Probiyotik Dondurma Örneklerinin Fizikokimyasal Analizleri.....	28
2.5.2	Probiyotik Canlı Sayımı.....	30
2.5.3	Renk Özelliklerinin Belirlenmesi.....	30
2.5.4	Erime Özelliklerinin Belirlenmesi.....	30
2.5.5	Reolojik Özelliklerin Belirlenmesi.....	30
2.5.6	Uçucu Bileşenlerin Belirlenmesi.....	31
2.5.7	Duyusal Değerlendirme.....	31
2.6	İstatistiksel Analiz.....	32
3	BULGULAR VE TARTIŞMA	33
3.1	<i>S. boulardii</i> Suşlarının Tanımlanması.....	33
3.2	<i>S. boulardii</i> Suşlarının Probiyotik Özellikleri.....	39
3.2.1	Oto-agregasyon Sonuçları.....	39
3.2.2	Hücre Yüzey Hidrofobisitesi Sonuçları.....	40
3.2.3	Düşük pH ve Safra Tuzu Toleransı Sonuçları.....	42
3.2.4	Gastrointestinal Koşullara Direnç Sonuçları.....	45
3.2.5	Suşların Antibiyotik Dirençleri	46
3.2.6	Suşların Antifungal Aktiviteleri.....	49
3.2.7	Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	51
3.3	En İyi Özellik Gösteren Suşun Belirlenmesi.....	54
3.4	Probiyotik Dondurma Örneklerinin Özellikleri.....	56
3.4.1	Probiyotik Dondurma Örneklerinin Fizikokimyasal Analizleri.....	56
3.4.2	Dondurma Örneklerinde Probiyotik Canlılık.....	60
3.4.3	Probiyotik Dondurma Örneklerinin Renk Özellikleri.....	66
3.4.4	Probiyotik Dondurma Örneklerinin Erime Özellikleri.....	68
3.4.5	Probiyotik Dondurma Örneklerinin Reolojik Özellikleri.....	69
3.4.6	Probiyotik Dondurma Örneklerinin Uçucu Bileşenleri.....	73
3.4.7	Probiyotik Dondurma Örneklerinin Duyusal Değerlendirmesi.....	77
4	SONUÇ VE ÖNERİLER	80
	KAYNAKÇA	82

A <i>S. boulardii</i> SUŞLARININ 26S GEN DİZİ SONUÇLARI	94
B PROBİYOTİK DONDURMA ÖRNEKLERİNİN DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU	100
C PROBİYOTİK DONDURMA ÖRNEKLERİNİN TOPLAM İYON KROMATOGRAMLARI	101
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	104

SİMGELİSTESİ

n	Akış Davranış İndeksi
T_{pik}	Dondurma Örneklerinde Erimenin En Yüksek Olduğu Sıcaklık Değeri
T_{son}	Dondurma Örneklerinde Erimenin Tamamlandığı Sıcaklık Değeri
T_{ilk}	Dondurma Örneklerinin Erimeye Başladığı İlk Sıcaklık Değeri
Δh	Dondurma Örneklerinde Erimenin Tamamlanması İçin Gerekli Enerji Miktarı
σ	Kayma Gerilimi
γ	Kayma Hızı
a^*	Kırmızılık
K	Kıvam Katsayısı
L^*	Parlaklık
$^{\circ}C$	Santigrat Derece
b^*	Sarılık

KISALTMA LİSTESİ

bç	Baz Çifti
CaCl ₂	Kalsiyum Klorür
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DTK	Diferansiyel Taramalı Kolorimetre
FT-IR	Fouirer Transform Infrared Spectroscopy
FOS	Fruktooligosakkaritler
g	Gram
GABA	γ-Aminobütirik Asit
GOS	Glaktooligosakkaritler
HCl	Hidroklorik Asit
K ₂ HPO ₄	Dipotasyum Hidrojen Fosfat
KCl	Potasyum Klorür
kob	Koloni Oluşturan Birim
M	Molar
mcg	Mikrogram
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
MRS	De Man, Rogosa ve Sharpe
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
nm	Nanometre
OD	Optic Density (Optik Yoğunluk)
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rpm	Revolutions per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
TE	Tris EDTA Tamponu
TBE	Tris Borat EDTA
μL	Mikrolitre

µm	Mikrometre
UV	Ultra Viyole Işık
YGC	Yeast Extract Glucose Chloramphenicol
YPD	Yeast Extract Peptone Dextrose

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1	Fonksiyonel gıdaların insan sağlığı üzerine etkisi.....	1
Şekil 1.2	Probiyotik mikroorganizmaların etki mekanizması.....	5
Şekil 1.3	Mayaların gıda endüstrisinde fonksiyonel ürün üretiminde oynadıkları rol.....	6
Şekil 1.4	<i>S. boulardii</i> 'nin olası antimikrobiyal etki mekanizması.....	10
Şekil 2.1	Probiyotik dondurma akış şeması	27
Şekil 3.1	<i>S. boulardii</i> suşlarının PZR jel elektroforez görüntüsü.....	34
Şekil 3.2	<i>S. boulardii</i> suşlarının glukoz-galaktoz fermentasyonu.....	35
Şekil 3.3	<i>S. boulardii</i> ve <i>S. cerevisiae</i> suşlarının askospor oluşumları.....	35
Şekil 3.4	<i>S. boulardii</i> suşlarının 26S geninin amplifikasyonunu gösteren jel.....	36
Şekil 3.5	<i>S. boulardii</i> suşlarının filogenetik sınıflandırılması.....	36
Şekil 3.6	<i>S. boulardii</i> suşlarının diğer maya türlerine yakınlıklarını gösteren FT-IR dendogramı.....	38
Şekil 3.7	<i>S. boulardii</i> suşlarının oto-agregasyon yüzdeleri.....	40
Şekil 3.8	<i>S. boulardii</i> suşlarının hücre yüzey hidrofobisi yüzdeleri.....	41
Şekil 3.9	<i>S. boulardii</i> suşlarının düşük pH ve safra tuzlarına toleransı.....	43
Şekil 3.10	Probiyotik dondurma örneklerinde <i>S. boulardii</i> ile <i>L. rhamnosus</i> 'a ait preparatların basit boyama mikroskop görüntüsü.....	62
Şekil 3.11	Probiyotik dondurma örneklerinde canlı probiyotik sayımı.....	64
Şekil 3.12	Probiyotik dondurma örneklerinin akış davranışları.....	72
Şekil 3.13	Probiyotik dondurma örneklerinin uçucu bileşenleri.....	75
Şekil 3.14	Probiyotik dondurma örneklerinin duyuusal sonuçlarının radar grafik ile gösterimi.....	79

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1	Yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalar.....	3
Tablo 1.2	<i>S. boulardii</i> ile <i>S. cerevisiae</i> arasındaki temel farklılıklar.....	7
Tablo 2.1	<i>S. boulardii</i> içeren ticari tabletlerin detaylı bilgisi.....	17
Tablo 2.2	<i>S. boulardii</i> suşlarının tanımlanmasında kullanılan primerler ve PZR koşulları.....	21
Tablo 2.3	Probiyotik dondurma formülasyonu.....	28
Tablo 3.1	<i>S. boulardii</i> suşlarının gastrointestinal koşullardaki canlılığı.....	46
Tablo 3.2	<i>S. boulardii</i> suşlarının antibakteriyel antibiyotiklere direnci	48
Tablo 3.3	<i>S. boulardii</i> suşlarının antifungal antibiyotiklere direnci	49
Tablo 3.4	<i>S. boulardii</i> suşlarının antifungal aktiviteleri.....	51
Tablo 3.5	<i>S. boulardii</i> suşlarının patojenik bakterilere karşı antibakteriyel aktivitelerinin inhibisyon zonları.....	53
Tablo 3.6	Probiyotik dondurma örneklerinin fizikokimyasal analiz sonuçları.....	59
Tablo 3.7	Probiyotik dondurma örneklerinde canlı mikroorganizma sayımı.....	63
Tablo 3.8	Probiyotik dondurma örneklerinin renk değerleri.....	67
Tablo 3.9	Probiyotik dondurma örneklerinin erime değerleri.....	69
Tablo 3.10	Probiyotik dondurma örneklerinin Ostwald de Waele modeline göre belirlenmiş reolojik parametreleri.....	71
Tablo 3.11	Probiyotik dondurma örneklerinin duyu analizi sonuçları.....	78

Çeşitli Ticari Kaynaklardan İzole Edilen *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*'nin Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Dondurma Üretiminde Kullanımı

Hamza GÖKTAŞ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ

Eş-Danışman: Doç. Dr. Enes DERTLİ

Saccharomyces cerevisiae var. *boulardii* farklı probiyotik özellikler gösteren eşsiz probiyotik bir mayadır. Bu çalışmada 11 farklı ticari ürünlerden *S. boulardii* suşları izole edilerek bu 11 suşun fenotipik ve genotipik tanımlamaları yapılmıştır. *S. boulardii* suşlarının oto-agregasyon yeteneklerinin birbirinden farklı olduğu tespit edilmiştir ve S10 suşunun 2. ve 24. saatlik inkübasyon süresi sonunda en yüksek agregasyon yeteneğine sahip olan suş olduğu belirlenmiştir. *S. boulardii* suşlarından S10, S2 ve S5 pH 2,5 gibi düşük asidik koşullarda canlılığını devam ettirmiştir. Gastro intestinal koşullarda S10 suşu %96,2 ile en fazla canlılık gösteren suş olarak belirlenmiştir. *S. boulardii* suşları test edilen antibakteriyel antibiyotiklerin tamamına dirençli bulunmuş olup antifungal antibiyotiklere karşı duyarlı bulunmuştur. Son olarak, *S. boulardii* suşları sırasıyla *Salmonella* Typhimurium ve *Aspergillus niger*'e karşı yüksek düzeyde antibakteriyel ve antifungal aktivite göstermiştir. Yapılan analizler sonucunda en iyi probiyotik özellik gösteren suş olarak S10 belirlenmiştir ve probiyotik dondurma üretimi gerçekleştirilmiştir. *S.*

boulardii ile birlikte *Lactobacillus rhamnosus* dondurma örneklerine ilave edilerek dondurma üzerindeki etkisi incelenmiştir. *S. boulardii* ilavesinin dondurma örneklerinin parlaklık değerlerini kontrole göre arttırdığı ve artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0,05$). *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* içeren dondurma örneklerinin kıvam katsayıları kontrol örneğine göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0,05$). Buna karşın *S. boulardii* ve *L. rhamnosus*'un birlikte ilave edildiği örneklerin kıvam katsayıları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P \leq 0,05$) ve daha yüksek kıvam katsayısı değerleri elde edilmiştir. Duyusal değerlendirmesi yapılan probiyotik dondurma örneklerinin genel kabul edilebilirliği kontrol örneğine göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P \leq 0,05$) ve panelistler tarafından daha düşük puanlama yapılmıştır. Ancak dinlendirme sonrası probiyotik ilavesinin panelistler tarafından olumlu puanlama yapıldığı belirlenmiştir. Dondurma örneklerinde uçucu bileşen analizi yapılmış olup dinlendirme öncesi *S. boulardii* ilave edilen örneklerde dinlendirme sonrası *S. boulardii* ilave edilen örneklere göre daha yüksek düzeyde etanol tespit edilmiştir. *S. boulardii* ilave edilen tüm dondurma örneklerinde 3-metil-1-butanol, izoamil alkol ve asetaldehit, *L. rhamnosus* ilave edilen tüm dondurma örneklerinde ise asetoin uçucu bileşenler olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, piyasada satılan *S. boulardii* ürünlerinin probiyotik özelliklerinin farklılık gösterdiği, probiyotik dondurma üretiminde *S. boulardii* ilavesinin önemli olduğu ve özellikle duyusal değerlendirme açısından dinlendirme sonrası probiyotik ilavesinin önem arz ettiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *S. boulardii*, probiyotik özellikler, dondurma, duyusal değerlendirme

Determination of Probiotic Properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Isolated from Various Commercial Sources and Its Use in Ice Cream Production

Hamza GÖKTAŞ

Department of Food Engineering

Doctor of Philosophy Thesis

Advisor: Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ

Co-advisor: Assoc. Prof. Dr. Enes DERTLİ

Saccharomyces cerevisiae var. *boulardii* is a unique probiotic yeast due to some probiotic characteristics. In this study, *S. boulardii* strains were isolated from 11 different commercial products and their phenotypic and genotypic characteristics were determined. It was determined that auto-aggregation abilities of *S. boulardii* strains were different from each other and the strain of S10 showed high aggregation at the end of 2nd and 24th incubation period. *S. boulardii* strain of S10, S2 and S5 were able to survive at pH 2,5. The strain S10 had the highest viability with 96,2% in the *in vitro* conditions. Distinct *S. boulardii* strains were found to be resistant to bacterial antibiotics whereas they were sensitive to fungal antibiotics. Finally, *S. boulardii* strains showed a high level of antibacterial and antifungal activities particularly against *Salmonella* Typhimurium and *Aspergillus niger*, respectively. As a result of the analysis of probiotic properties, S10 was determined as the best probiotic strain of *S. boulardii* and for the production of probiotic ice cream this strain used. *S. boulardii* and *Lactobacillus rhamnosus* were inoculated to ice cream samples and their effect was investigated on ice cream samples. Addition

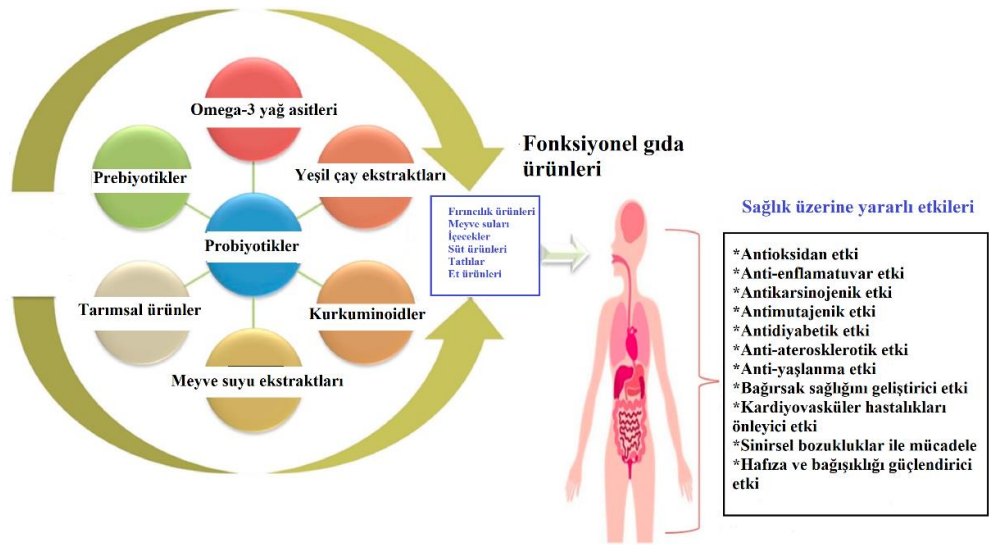
of *S. boulardii* was increased the brightness value of ice cream samples and this increasing was found statistically significant ($P \leq 0,05$). Consistency coefficients of ice cream samples containing *S. boulardii* and *L. rhamnosus* were not statistically significant compared to control sample ($P > 0,05$). On the other hand, the consistency coefficients of the samples to which *S. boulardii* and *L. rhamnosus* were added together were found to be statistically significant ($P \leq 0,05$) and higher consistency coefficient values were obtained. Sensory evaluation of probiotic ice cream samples was done and overall acceptability of probiotic ice cream samples was found to be statistically important ($P \leq 0,05$) compared to the control and scored lower by the panelists. However, probiotic inoculation after aging was positively scored by the panelists compared to the before aging. The volatile compound of ice creams was determined and ethanol was determined higher level at inoculated *S. boulardii* before aging than after aging. 3-methyl-1-butanol, isoamyl alcohol and acetaldehyde were the volatile components detected in all ice cream samples inoculated with *S. boulardii*, and acetoin was detected in all samples inoculated with *L. rhamnosus*. Finally, this study revealed the differences in the functional characteristics of *S. boulardii* strains available in the market. Inoculation of *S. boulardii* is important in the production of probiotic ice cream and in terms of sensory evaluation, inoculation of probiotics after aging is critically important.

Keywords: *S. boulardii*, probiotic properties, ice cream, sensory evaluation

1.1 Literatür Özeti

1.1.1 Fonksiyonel Gıdalar

Fonksiyonel gıdalar, insan vücudunda önemli veya sınırlı işlevler sağlayan, refahı ve sağlığı destekleyen, hipertansiyon, diyabet, kanser, osteoporoz ve kalp hastalıkları riskini azaltan veya bu risklerden koruyan bir ya da daha fazla fonksiyonel bileşen içeren gıdalar olarak tanımlanmaktadır [1]. Fonksiyonel gıdalar, aynı zamanda farma gıdalar veya nutrasötikler olarak da bilinmektedir [2]. Fonksiyonel gıdalar probiyotikler, prebiyotikler, antioksidanlar, polifenoller, steroller, karotenoitler gibi yararlı bileşiklerden en az bir tanesini içeren gıdalardır [3]. Dünya çapında tüketicilerin gıdaların sağlık üzerindeki etkisine (Şekil 1.1) ilişkin artan farkındalığı nedeniyle fonksiyonel gıdalara olan talep hızla artmaktadır [4, 5]. Günümüzde probiyotik mikroorganizma içeren fermente süt ürünleri, dondurma, çeşitli peynir türleri, bebek mamaları, süt tozu, dondurulmuş sütlü tatlılar, peynir altı suyu bazlı içecekler, ayran, tereyağı, normal ve aromalı sıvı süt ve konsantre süt gibi süt ürünlerinin tüketiminde güçlü bir artış olmuştur [6].



Şekil 1.1 Fonksiyonel gıdaların insan sağlığı üzerine etkileri [7]

Dondurma süt, Şeker, stabilizatör, emülgatör ve lezzet veren çeşitli bileşiklerin kombinasyonundan oluşan dondurulmuş bir süt ürünüdür [8]. Dondurma kalite özelliklerinde değişiklik olmadan uzun süre depolanabilen, lezzetli, sağlıklı ve besleyici değeri yüksek olan bir süt ürünüdür ve dünya çapında her yaştan insan tarafından severek tüketilmektedir [9, 10]. Ferahlatıcı etkisinden dolayı çoğunlukla yaz aylarında tüketilen bir ürün olsa da, bazı kiŐiler tarafından yıl boyunca da tüketilmektedir [8]. Dondurmanın besleyici özelliği olmasına rağmen tedavi edici özelliği yoktur ve tüketicilerin tedavi edici ürünlere artan talebi doğrultusunda probiyotik kültürlerin dondurma ürünlerine dahil edilmesi probiyotik dondurma üretiminin popülerlik kazanmasına neden olmuştur [9, 10]. Dondurma diğer fermente süt ürünlerine kıyasla probiyotik mikroorganizmaların insan vücuduna alınmasında taşıyıcı olarak kullanılabilecek ideal bir matristir ve ayrıca içermiŐ olduğu süt proteinleri, lipidler, laktoz ve diğer bileşenler sayesinde probiyotiklerin canlılığını devam ettirmesine katkıda bulunmaktadır [8].

1.1.2 Probiyotikler

Probiyotik terimi Yunancadan gelmektedir ve “yaŐam için” anlamında kullanılmaktadır [11]. Zaman içinde probiyotikler için çeşitli tanımlamalar yapılmıştır. FAO/WHO probiyotikleri “yeterli miktarda alındığında konakçının sağlığı üzerinde yararlı etkiler gösteren canlı mikroorganizmalar” Őeklinde tanımlamaktadır [12]. Probiyotikler ilk defa 20. yüzyıl baŐlarında Elie Metchnikoff'un fermente sütte (yoğurt) bulunan laktik asit bakterilerinin immünolojik yararını keŐfetmesiyle kavramsallaŐtırılmıŐtır. Günümüzde en önemli ve geniş çapta tüketilen probiyotikler laktobasiller ve bifidobakterlerdir. Tablo 1.1'de yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalar gösterilmiştir [13]. *Escherichia*, *Bacillus* ve *Enterococcus* gibi diğer bakteri cinsleri de probiyotik olarak kullanılsa da bu cinsler özellikle patojenik türler içerdiği için probiyotik güvenilirliği ile ilgili endiŐeler vardır [14]. Mayalar gibi bazı bakteri olmayan mikroorganizmalar, *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*, probiyotik olarak çalışılmış ve ticarileŐtirilmiŐtir [13].

Tablo 1.1 Yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalar

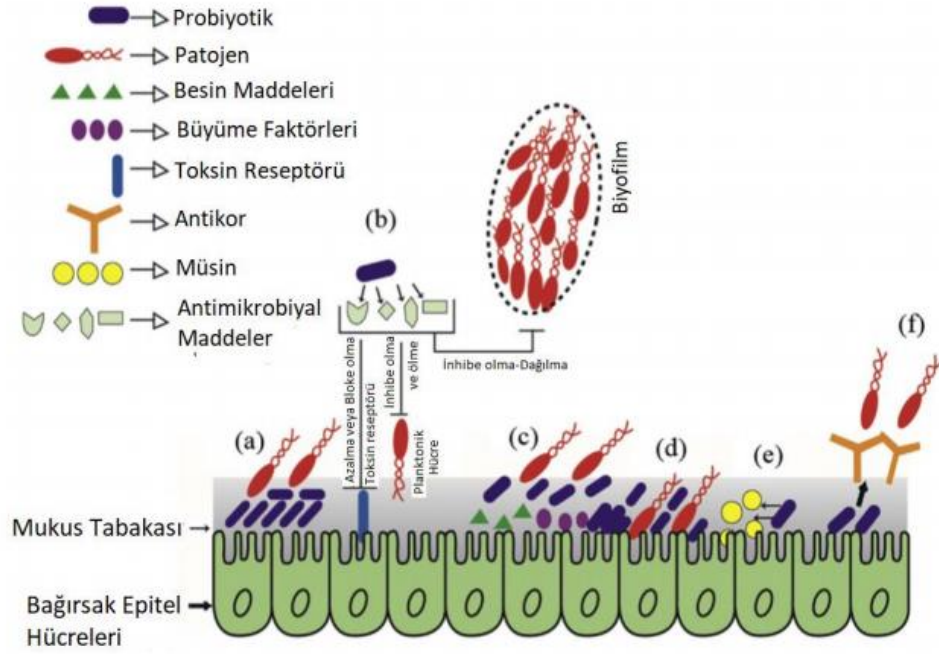
<i>Lactobacillus</i> türleri	<i>Bifidobacterium</i> türleri	Diğer laktik asit bakterileri	Laktik asit bakterisi olmayan türler
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i>
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> strain Nissle
<i>Lacticaseibacillus casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Lactobacillus gallinarum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>Lactobacillus johnsonii</i>			
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>			
<i>Limosilactobacillus reuteri</i>			
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>			

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için sahip olması gereken bazı özellikler vardır [15];

- ❖ Düşük pH ve safra tuzu gibi ekstrem koşullardan etkilenmemelidir,
- ❖ Bağırsak mikrobiyotasına tutunabilmeli ve ince bağırsakta kolonize olabilmelidir,
- ❖ Yan etki göstermeyip güvenilir olmalıdır,
- ❖ Patojen mikroorganizmalara karşı antagonistik etkiye sahip olmalıdır,
- ❖ Antimikrobiyal maddeler üretebilmelidir,
- ❖ Konakçının sağlığı üzerinde olumlu etkiler göstermelidir,
- ❖ Antibiyotik ajanlara karşı dirençli olmalıdır,
- ❖ Probiyotik ürün üretiminde üretim ve depolama periyodu boyunca aktivitesini koruyabilmelidir,
- ❖ Probiyotik mikroorganizmalar patojenik olmamalı ve toksin üretmemelidir,

Probiyotik mikroorganizmaların etki mekanizmaları; gıda ürünlerinin besin değerinin arttırılması, bağırsak sağlığının iyileştirilmesi ve antimikrobiyal maddelerin üretimi, patojenlerin epitel ve mukozal bölgelere tutunmasının önlenmesi, sınırlı düzeydeki substratlar için patojenlerle rekabet etmesi, bağışıklık sisteminin düzenlenmesini sağlayarak konakçı sağlığı üzerinde yararlar sunması gibi farklı yollarla gerçekleşebilmektedir [16]. Şekil 1.2’de bu etki mekanizmaları kısaca özetlenmiştir;

- a) Patojen mikroorganizmalarla rekabet ederek hücre yüzeyine tutunurlar,
- b) Çeşitli antimikrobiyal maddeler üretmektedirler,
- c) Besin maddeleri ve gelişme faktörleri için patojen mikroorganizmalarla rekabet ederler,
- d) İntestinal mukozoya tutunabilme yeteneğinin artması,
- e) Epitel bariyer fonksiyonunun artması,
- f) İmmün sistemin uyarılması (Ig A üretiminin artması),



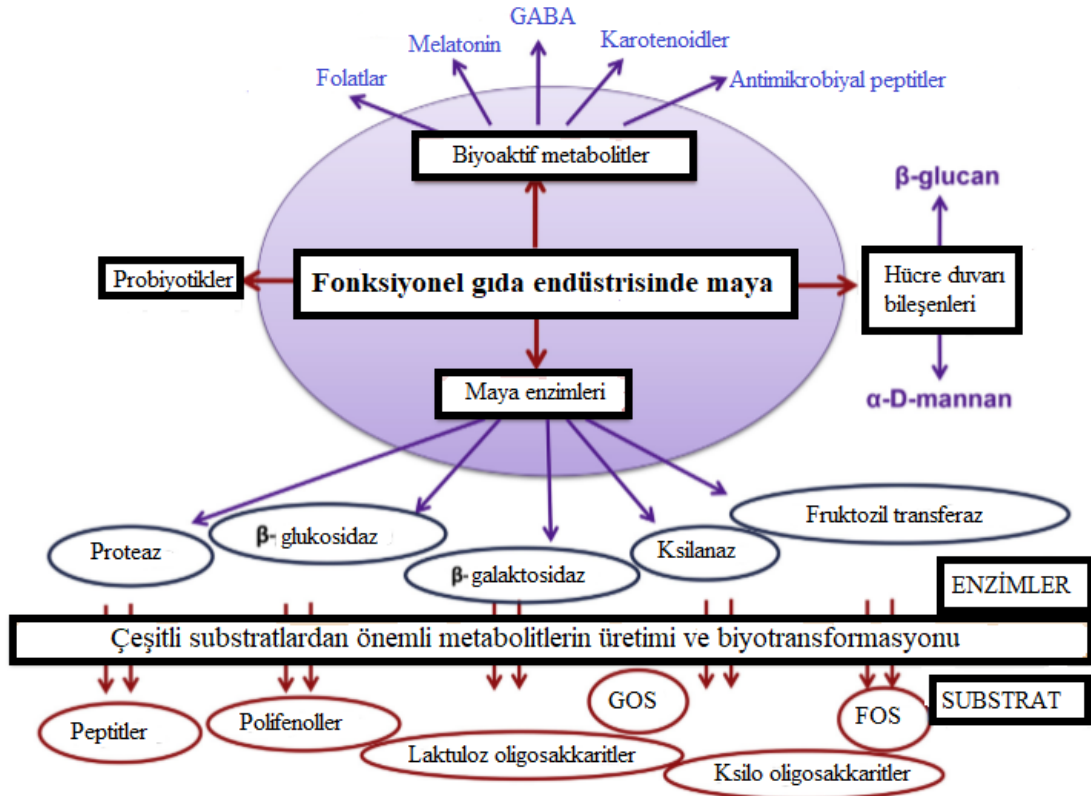
Şekil 1.2 Probiyotik mikroorganizmaların etki mekanizması [16]

1.1.3 Mayalar ve Probiyotik Bir Maya, *S. boulardii*

Mayalar

Mayalar ökaryotik mikroorganizmalardır ve gıda endüstrisinde biyoteknolojik potansiyele sahip olan mayalar *Ascomycetes* ve *Basidiomycetes* bölümünde temsil edilmektedir [17]. Mayalar alkollü içecekler, peynir gibi fermente süt ürünleri ve tahıl bazlı çeşitli ürünlerin fermentasyonunda kullanılmaktadır [18]. Mayalar gıda fermentasyonunda alkol üretimi, organik asitlerin üretimi ve kullanımı, lezzet, aroma ve tekstürel yapının iyileştirilmesi, beslenme özelliklerinin geliştirilmesi ve beslenme önleyici faktörlerin ve toksinlerin önlenmesi gibi birçok önemli rol oynamaktadır [18, 19]. Mayalar birçok fermente üründen izole edilerek tanımlanmıştır ve endüstriyel düzeyde çeşitli fonksiyonel ürünlerin üretiminde starter kültür (başlatıcı kültür) ya da co-starter kültür (yardımcı kültür) olarak kullanılmaktadır [17]. Mayalar farklı fonksiyonel ürünlerin üretiminden sorumludur ve nutrasötik gıdaların üretiminde kilit rol oynamaktadır [17, 20]. Şekil 1.3'te görüldüğü üzere mayaların fonksiyonel gıda endüstrisinde çeşitli uygulamaları mevcuttur;

- ❖ Probiyotik olarak kullanılan canlı hücreler
- ❖ Nutrasötik değere sahip hücre duvarı bileşenleri (β -glukan gibi)
- ❖ Biyoaktif metabolitlerden (folat, karotenoidler, amino bütirik asit) oluşan hücre dışı fraksiyonların salgılanması
- ❖ Ve gıda metabolitlerinin biyotransformasyonu için gerekli olan spesifik enzimlerin üretimi



Şekil 1.3 Mayaların gıda endüstrisinde fonksiyonel ürün üretiminde oynadıkları rol [17]

Mayalar, bakteriyel hücrelerden yaklaşık on kat daha büyük olmaları ve antibiyotiklere doğal olarak dirençli olmaları gibi bakterilere kıyasla çeşitli avantajlara sahiptir [17].

Saccharomyces cerevisiae, *Kluyveromyces marxianus*, *K. lactis*, *Debaryomyces hansenii*, *S. boulardii*, *Torulaspora delbrueckii*, *Candida krusei*, *Yarrowia lipolytica*, *Pichia fermentase* ve *P. kudriavzevii* gibi çeşitli maya türlerinin probiyotik özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir [21-23]. *S. boulardii*, çeşitli probiyotik özelliklere sahip, kapsamlı olarak çalışılmış bir maya türüdür ve birçok ülkede terapötik ve önleyici

bir ajan olarak kullanılmaktadır [24]. Ayrıca, *S. boulardii* enflamatuvar bağırsak hastalıkların önlenmesinde ve insan ve hayvanlarda çeşitli ishal türlerinin tedavisinde ekonomik ve etkili probiyotik bir maya olarak geniş çapta kullanılmaktadır [24-26].

S. boulardii

S. boulardii 1920'li yıllarda Fransız bilim adı Henri Boulard tarafından bir kolera salgını sırasında Hindistan-Çin bölgesinde keşfedilmiştir. Henri Boulard liçi ve mangodan gibi tropik meyvelerden veya bu meyvelerden hazırlanan çayları tüketen insanlarda kolera semptomlarının görülmediğini gözlemlemiş ve böylece *S. boulardii*'yi izole etmiştir [27]. *S. boulardii* gastrik koşullarda canlı kalabilen, antibiyotikler tarafından inhibe edilmeyen, normal mikrobiyotayı olumsuz yönde etkilemeyen benzersiz probiyotik ve biyoterapötik bir mayadır [14].

S. boulardii, endüstriyel mikrobiyolojide çeşitli gıda ürünlerinin üretilmesinde kullanılan ve fırıncılık mayası olarak da bilinen *S. cerevisiae*'nin yakın akrabasıdır [27]. Bu iki maya arasındaki temel farklılıklar (Tablo 1.2) *S. boulardii*'nin optimum gelişme sıcaklığının insan vücut sıcaklığı olan 37 °C olması, düşük pH değerlerinde canlı kalabilmesi, galaktozu kullanamaması ve askospor oluşturmamasıdır [14, 27].

Tablo 1.2 *S. boulardii* ile *S. cerevisiae* arasındaki temel farklılıklar

<i>S. boulardii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Optimum gelişme sıcaklığı (37 °C)	Optimum gelişme sıcaklığı (30 °C)
Düşük pH değerlerine daha yüksek direnç	Düşük pH değerlerine daha az direnç
Galaktozu kullanamaz	Galaktozu kullanabilir
Askospor oluşturmaz	Askospor oluşturabilir
Ty 1/2 elementlerine sahip değildir	Ty 1/2 elementlerinden bazılarına sahiptir

S. boulardii'nin karyotipleri *S. cerevisiae*'ya çok benzerdir

Çeşitli PZR teknikleri *S. boulardii*'yi *S. cerevisiae*'dan ayırmada başarısız olmuştur

İlk başlarda *S. boulardii*, *S. cerevisiae*'den ayrı maya olarak teşhis edilmiş [28] olsa da yapılan genetik çalışmalar *S. boulardii* ile *S. cerevisiae*'nin özdeş olduğunu ancak metabolizma ve probiyotik özellikler bakımından önemli farklılıkları olduğunu göstermiştir [29]. Ayrıca, *S. boulardii*'nin genetik olarak farklı olduğu eşsiz spesifik mikrosatellit allellerinin karakterize edildiği ve *S. cerevisiae*'den bu özelliği ile ayrıldığı tespit edilmiştir [30]. Mevcut taksonomik çalışmalar *S. boulardii*'nin ayrı bir tür olmayacağını ve *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* olarak tanımlanması gerektiğini göstermiştir [31, 32].

S. boulardii'nin antimikrobiyal etkisi Şekil 1.4'te görüldüğü üzere farklı şekillerde gerçekleşebilmektedir. Bunlardan bir tanesi, bakterilerin maya yüzeyine geri dönüşümsüz bağlanması ve mukoza zarlarına yapışmasının önlenmesidir (Şekil 1.4). *S. boulardii*'nin enterik patojenleri bir reseptör olarak mannoza bağlama kabiliyetine sahip olduğunu belirtmişlerdir [33].

S. boulardii çeşitli substratların kullanımı ve ürünlerin salınımı ile bağırsak mikroflorasının gelişimini etkilemektedir (Şekil 1.4)[27]. Maya hücreleri; proteinler, B grubu vitaminleri, nükleik asitler, vitaminler ve minerallerce zengindir.

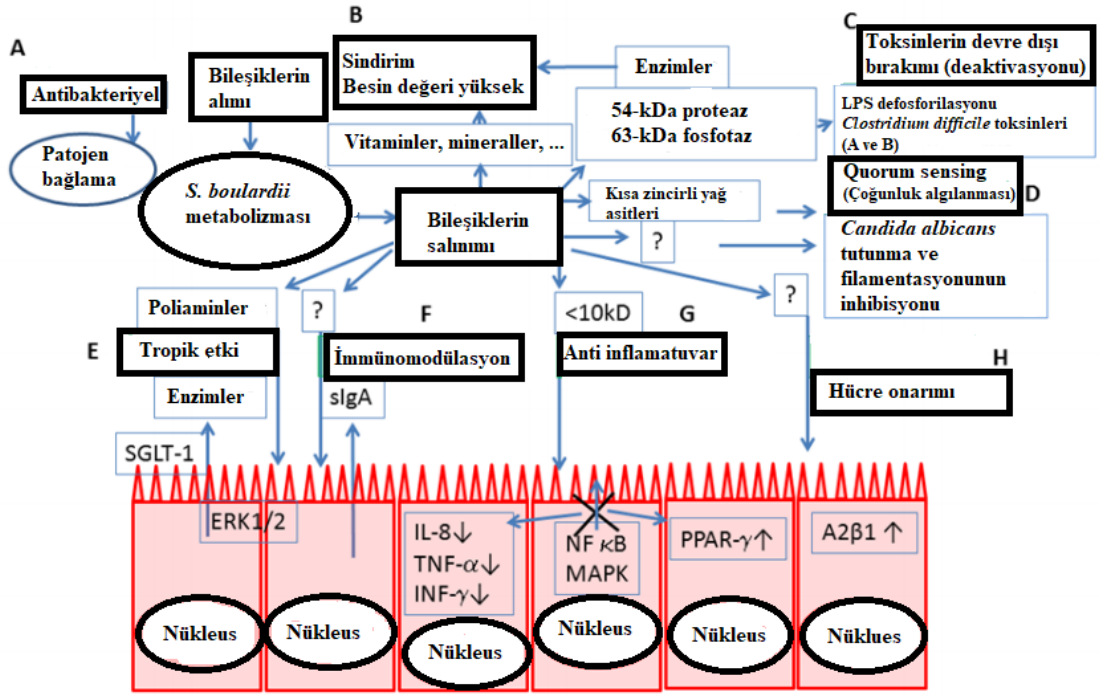
S. boulardii bakteriyel toksinleri inaktive ederek etki göstermektedir (Şekil 1.4). Örneğin *S. boulardii*'nin salgılamış olduğu 63-kDa protein fosfotazın *Escherichia coli* endotoksinlerini defosforile edebildiğini ve kısmen inaktive ettiğini göstermiştir. Ayrıca *S. boulardii*'nin salgılamış olduğu 54-kDa serin proteaz *Clostridium difficile*'nin A ve B toksinleri sindirmektedir [34].

S. boulardii tarafından ortama salınan moleküllerden bazıları çoğunluk algılanması olarak da bilinen quorum sensing molekülleridir (Şekil 1.4). Bu moleküller mikroorganizmaların metabolizmasını ve özelliklerini etkilerler, örneğin bu moleküller patojenlerin yapışma ve filamentasyon gibi bazı özelliklerinin kaybolmasını sağlamaktadır [35, 36].

S. boulardii hücreleri, hücre olgunlaşmasını, enzim ekspresyonunu ve membran taşınmasını etkilediği bilinen poliaminleri (spermidin ve spermin) içermektedir. Bu nedenle poliaminler bağırsakta tropik etki göstermektedir (Şekil 1.4). Tropik etkinin en az üç mekanizma ile bağırsak fonksiyonunu iyileştirdiği varsayılmaktadır: maya tarafından çeşitli endoluminal bileşiklerin salgılanması, transdüksiyon tropik sinyallerini etkileyen poliaminlerin salgılanması ve bunların neticesi olarak fırçamsı yüzey membran protein (enzimler ve taşıyıcılar) sentezinin artmasıdır.

S. boulardii'nin bir diğer antimikrobiyal ve antiinflamatuvar etki mekanizması immünomodülasyonudur (Şekil 1.4) [37]. İmmünomodülasyon, enflamasyonla ilişkili olan antibakteriyel ve antiinflamatuvar etki ile sinerjik hareket etmektedir. Yapılan çalışmalar *S. boulardii*'nin immunoglobulin A salgılanmasını arttırdığını göstermektedir [38]. İmmünomodülasyon, mukozal dendritik hücrelerin etkileşimiyle *S. boulardii* tarafından uygulanmaktadır.

Enflamatuar bağırsak hastalıklarına yol açan bakteriyel enfeksiyonlar, bağırsak epitel hücre hasarına neden olmaktadır. Bu nedenle, bu hastalıkların azalması, hem enflamasyonun durmasını hem de enterosit göçünden etkilenen hasarlı epitel içinde hücrelerin onarımını (Şekil 1.4) gerektirmektedir. *S. boulardii* hücre onarımını arttıran $\alpha 2\beta 1$ gibi maddeler salgılamaktadır [39].



Şekil 1.4 *S. boulardii*'nin olası antimikrobiyal etki mekanizmaları [27]

S. boulardii patojenik olmayan bir mayadır ve genel olarak ağız yoluyla gıda takviyesi olarak kullanılmaktadır [40]. Ancak *S. boulardii*'nin fonksiyonel gıdalarda kullanımı yaygın değildir [41]. *S. boulardii* içeren fonksiyonel gıda geliştirilmesinde yaygın olarak araştırılan gıda maddeleri arasında süt ürünleri, meyve suları, fermente içecekler, tahıllar, baklagiller ve bunların türevi olan gıda ürünleridir [42-51].

1.1.4 *S. boulardii* ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Posteraro vd [52] yaptıkları bir çalışmada *S. cerevisiae*'nin klinik ve probiyotik suşlarının farklılığının belirlenmesinde çeşitli moleküler teknikler kullanmışlardır. Buna göre, YKL139w ve YLR177w genlerinin mikrosatellit polimorfizm analizinin yanı sıra Ty917 hibridizasyonu ile yapılan analizlerin *S. boulardii* suşlarının doğru bir şekilde tanımlanması için en yararlı araç olduğunu belirtmişlerdir [52].

Liu vd [53] yaptıkları çalışmada *S. boulardii*'nin *S. cerevisiae*'ye göre galaktozu kullanmadığını veya yavaş kullandığını belirtmişlerdir. Ancak bu konuyla ilgili moleküler mekanizmalar henüz aydınlatılmamıştır. galaktoz kullanımından eksik PGM2 genlerinin önemli rol oynadığını ve bu genlerin tamamlanmasıyla *S. boulardii*'nin galaktozu daha etkili kullandığını belirtmişlerdir [53].

Fietto vd [29] yaptıkları bir çalışmada *S. cerevisiae* ile *S. boulardii*'nin moleküler ve fiziksel özelliklerini kıyaslamışlardır. İki maya türünün genetik olarak birbirine çok benzediğini ancak büyüme verimi, sıcaklık ve asidik koşullara direnç gibi önemli probiyotik özellikler açısından çok farklı davranış sergilediklerini belirtmişlerdir [29].

Khatri vd. [54] yaptıkları bir çalışmada 145 tane *S. cerevisiae* suşu ile ticari *S. boulardii* suşlarının genom seviyelerinin benzer ve farklı yönleri belirlenmişlerdir [54]. Bu kapsamda, *S. boulardii* suşlarında Ty1, Ty3 ve Ty4 elementlerinin eksik olduğunu ancak Ty2 ve Ty4 elementlerinin tam olarak tanımlandığını belirtmişlerdir. Ayrıca, heksoz taşıyıcıları olan HXT9 ve HXT11 genleri ve asparajin kullanımının tüm *S. boulardii* suşlarında olmadığını belirtmişlerdir.

Rajkowska ve Kunicka [55] yaptıkları çalışmada *S. boulardii*'nin bazı patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkisini değerlendirmişlerdir [55]. *S. boulardii*'nin *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* gibi patojenlerin hücre sayısında istatistiksel olarak önemli bir azalmanın olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *S. aureus*, *Campylobacter jejuni* ve *Enterococcus faecalis*'in *S. boulardii* hücre duvarına bağlanmasına rağmen, *L. monocytogenes* ve *P. aeruginosa*'nın hücre duvarına bağlanmadığını belirtmişlerdir.

Kühle ve Jespersen [32] yaptıkları çalışmada *S. boulardii*'nin taksonomik pozisyonunu değerlendirmiş olup, 26S rDNA D1/D2 domain sekans analizi, ITS1-5.8S rDNA-ITS2 bölgesi ve mitokondriyal sitokrom-c oksidaz II genlerinin yüksek oranda *S. boulardii* ile *S. cerevisiae* arasında benzer olduğunu ve *S. boulardii*'nin *S. cerevisiae*'ye olan yakın ilişkisini güçlü bir şekilde ortaya koymuşlardır. *S. boulardii*'nin *S. cerevisiae*'nin bir üyesi olarak tanınmasını ve ayrı bir tür olarak kullanılmamasını gerektiğini ifade etmişlerdir [32].

Graff vd [56] yaptıkları bir çalışmada probiyotik yararları kanıtlanmış olan *S. boulardii*'nin hem dondurulmuş toz hem de sulu süspansiyon halindeki iki farklı ticari ürünün mide (pH 1,1 0,1 N HCl) ve bağırsak (6,8 fosfat tamponu) pH değerlerindeki hayatta kalma oranını *in vitro* koşullarda araştırmışlardır. pH 6,8 fosfat tamponunda her iki formdaki *S. boulardii*'nin 6 saat boyunca canlılıklarının

aynı kalmış olmasına rağmen, pH 1,1'de canlılıklarının 5 dk içinde önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak, sulu süspansiyon halindeki mayanın, dondurularak kurutulmuş mayadan asidik koşullara daha az duyarlı olmasına rağmen, canlı *S. boulardii*'nin oral biyoyararlılığının iyileştirilmesi için bir gastrik korumanın gerekli olacağını ifade etmişlerdir.

Hudson vd [57] *S. boulardii*'nin sağlıklı mukoza bağışıklık sisteminde hem gerçek hem de immünmodülatör özelliklerini araştırmışlardır. Genomik sekanslama ve morfolojik analizlerin, *S. boulardii*'nin hücre duvarı bileşiminde *S. cerevisiae*'ye göre farklılıklar olduğunu ve bu durumun kısmen *S. boulardii*'nin probiyotik özelliklerinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir [57].

Naimah vd [58] *S. boulardii*'yi aljinat ve aljinat-kitosan ile mikroenkapsüle ederek gastrointestinal koşullardaki direncini belirledikten sonra dondurmadaki canlılığını belirlemişlerdir. Enkapsüle edilmiş *S. boulardii*'nin canlılığının 21 günlük depolama periyodu boyunca kontrol örneğine göre daha iyi olduğu belirtilmiştir. *S. boulardii* içeren dondurmanın fonksiyonel gıda üretiminde kullanılabilecek iyi bir araç olduğu ifade edilmiştir [58].

Heenan vd [48] fermente edilmemiş dondurulmuş soya tatlısına 10^6 kob/g düzeyinde farklı probiyotik mikroorganizmalar inoküle etmişler ve probiyotik mikroorganizmaların canlılığı ve duyusal kabul edilebilirliğini belirlemişlerdir. *S. boulardii*'nin depolama periyodu boyunca yeterli düzeyde canlılık sağlayamadığı belirtilmiştir. Ayrıca duyusal açıdan *S. boulardii* içeren örneklerin kabul edilebilir düzeyde olmadığını belirtmişlerdir.

Salik ve Arslaner [59] fonksiyonel dondurma üretiminde saruç ve üzüm çekirdeği ile birlikte *S. boulardii* kullanmışlar ve dondurmanın bazı özellikleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Saruç ve üzüm çekirdeği ilavesinin *S. boulardii*'nin canlılığını olumlu yönde etkilediği ve *S. boulardii* ile birlikte saruç ve üzüm çekirdeğinin yüksek besinsel değerli fonksiyonel dondurma üretiminde birlikte kullanılabileceğini belirtmişlerdir [59].

Zamora vd [60] yaptıkları bir çalışmada probiyotik *S. boulardii*'yi prebiyotik ajan olan inülin ile enkapsüle etmişlerdir. *S. boulardii* enkapsüle form ve enkapsüle

edilmeden peynire dahil edilmiştir. Bu peynirlerin raf ömrü boyunca probiyotik canlılık ve duyuşal özellikleri değerdendirilmiştir. Peynir örnekleri 4°C'de 30 gün boyunca depolanmış ve bu periyot boyunca enkapsüle edilmeyen probiyotik mikroorganizmanın canlılığı enkaspüle forma göre daha az olmuştur. *S. boulardii* ile inülin simbiyotik ilişkisinin peynirin duyuşal özelliklerini değıştirmediği ve depolama periyodu boyunca probiyotik ürün için gerekli olan canlılık miktarını karşıladiğı belirtilmiştir [60].

Pandiyan vd. [61] yaptıkları çalışmada probiyotik *Lactobacillus acidophilus* ve *S. boulardii* ve prebiyotik frukto-oligosakkaritler (FOS) peyniraltı suyu protein konsantresi ile zenginleştirilerek dondurma üretimi gerçekteştirmişler ve depolama boyunca probiyotiklerin canlılığı ve FOS etkisini incelemişlerdir. FOS'ların probiyotik kültürlerin canlılığı üzerinde önemli ölçüde etkisi olduğu vurgulanmıştır ($P \leq 0,01$). Dondurmanın depolanması boyunca *L. acidophilus* ve *S. boulardii* sayılarında önemli bir azalmanın olduğu belirlenmiştir. *L. acidophilus* ile *S. boulardii*'nin kombine olarak dahil edildiği örneklerdeki canlılık sayılarının tek başına ilave edilen örneklere kıyasla daha yüksek olduğu ifade edilmiştir. FOS içeren dondurmanın, insan gastrointestinal sistemindeki *L. acidophilus* ve *S. boulardii*'nin genel gelişimi ve korunması için mükemmel bir ortam oluşturdęu belirtilmiştir [61].

Pandiyan [62] farklı pH fermentasyon koşullarında (6,0, 5,5 ve 5,0) hazırlanan dondurma mikslerine probiyotik *S. boulardii*'yi inoküle ederek dondurma örneklerindeki probiyotik canlılığı belirlemiş ve duyuşal değerdendirmesini yapmıştır. Farklı fermentasyon koşullarının duyuşal özellikler üzerinde anlamlı farklılık gösterdiği belirtilmiştir ($P \leq 0,01$). Farklı koşullarda fermente edilen miksler ile dondurma örneklerindeki *S. boulardii* sayılarında önemli bir farklılık gözlemlenmiştir. pH 5,5 ve 5,0 olan dondurma örneklerinde probiyotik gıdalar için belirtilen yeterli düzeyde canlı mikroorganizma olduğu belirtilmiştir. Ancak pH 5,5 ile hazırlanan dondurmaların duyuşal özelliklerinin pH 5,0'a göre daha iyi olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak probiyotik dondurma üretiminde *S. boulardii*'nin dahil edilebileceği ve pH değeri 5,5'ten yüksek olan dondurma örneklerinin duyuşal açıdan daha fazla tercih edildiği belirtilmiştir [62].

1.2 Tezin Amacı

S. boulardii probiyotik özellikleri kanıtlanan tek maya türüdür. Optimum gelime sıcaklığının insan vücut sıcaklığı olan 37 °C olması, düşük pH değerlerine dirençli olması ve antibiyotikler tarafından inhibe edilmemesi gibi probiyotik özellikler bakımından diğer maya türlerinden ayrılmaktadır. Bu bağlamda bu tez çalışmasında probiyotik olarak *S. boulardii* seçilmiş, bazı probiyotik özellikleri belirlenerek probiyotik ürün denemesinin yapılması amaçlanmıştır.

Bu amaç doğrultusunda yapılması planlanan aşamalar aşağıda özetlenmiştir:

- 1) Piyasada ticari olarak satılan *S. boulardii* içeren ticari preparatların eczane ve marketlerden temin edilmesi,
- 2) *S. boulardii* suşlarının bu preparatlardan izole edilerek biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi, uygun primerler kullanılarak PZR ile hem genetik hem de FTIR spektroskopisi ile tanımlanması,
- 3) Tanımlanan *S. boulardii* suşlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi,
- 4) Probiyotik özelliği iyi olan suşun seçilerek *L. rhamnosus* ile birlikte ürün denemesinin yapılması

1.3 Hipotez

Eczane ve marketlerde probiyotik ürün olarak bir çok gıda takviyesi satılmaktadır. Bunlardan bir kısmı probiyotik olarak sadece laktik asit bakterilerini içerirken bir kısmında ise *S. boulardii* tek ya da diğer probiyotik kültürlerle birlikte kullanılabilmektedir. Ancak kullanılan mikroorganizmaların probiyotik özellikleri tam olarak bilinmemektedir ve bu ürünleri insanlar sadece hastalık durumunda alarak kullanmaktadır. Probiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalar ile belirlenmiştir. Bu sebepten dolayı insanlar probiyotikleri sadece hasta olduklarında değil, sağlıklarını devam ettirebilmek için daha sık kullanmaları gerekmektedir.

Bu çalışmanın hipotezini *S. boulardii* içeren ticari preparatların eczane ve marketlerden toplanması, izole edilerek probiyotik özelliklerinin belirlenmesi ve en iyi özelliğe sahip suşların her yaştan insan tarafından sevilerek tüketilen bir ürün

olan dondurma da kullanılarak herkesin rahatça ulaşabileceği probiyotik bir ürünün geliştirilmesi oluşturmaktadır.

2.1 *S. boulardii* Suşlarının İzole Edilmesi

S. boulardii suşlarının izole edilmesi için İstanbul'da satılan 11 farklı markadan 11 farklı tablet satın alınmıştır. Bu tabletler ile ilgili detaylı bilgilere Tablo 2.1'de yer verilmiştir. İzolasyon için, 10 g liyofilize kültür 90 mL NaCl (%0,9) (Merck, Almanya) çözeltisi ile karıştırılarak 2 dk boyunca homojenize edilmiştir. Seri dilüsyonlar hazırlanarak Yeast Extract Peptone Dextrose Agar (YPD Agar, (Difco, İtalya)) üzerine yayma tekniğine uygun olarak ekim yapılmıştır. YPD agarlar 37°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra tek koloniler seçilerek YPD agar üzerine çizilerek saflaştırma işlemi yapılmıştır. Saf olan koloniler %20 gliserol (%20 gliserol+%80 distile su) solüsyonunda -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 2.1 *S. boulardii* içeren ticari tabletlerin detaylı bilgisi

Suşlar	Menşei	T.E.T.T	Bileşenler	kob/g	Suş formülasyonu
T.K. 1	Türkiye	Ocak 2022	Maltodekstrin, Magnezyum stearat	5 x 10 ⁹	<i>S. boulardii</i> , <i>L. acidophilus/bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>
T.K. 2	Fransa	Nisan 2020	İzomalt, Magnezyum stearat, Vanilya, Mikrokristalin selüloz	5 x 10 ⁹	<i>S. boulardii</i>
T.K. 3	Bulgaristan	Mayıs 2021	İnulin, Magnezyum stearat	1 x 10 ⁹	<i>S. boulardii</i> , <i>L. acidophilus/casei</i> , <i>B. bifidum</i>
T.K. 4	Türkiye	Şubat 2021	Maltodekstrin, Hidroksipropil metil selüloz	5 x 10 ⁹	<i>S. boulardii</i>
T.K. 5	Türkiye	Haziran 2020	Maltodekstrin, İzomalt	5 x 10 ⁹	<i>S. boulardii</i>
T.K. 6	Türkiye	Şubat 2020	Mannitol, Mikrokristalin selüloz, Magnezyum stearat	5 x 10 ⁹	<i>S. boulardii</i>
T.K. 7	Türkiye	Mart 2020	Maltodekstrin, Mannitol	5 x 10 ⁹	<i>S. boulardii</i>
T.K. 8	Türkiye	Mayıs 2020	Maltodekstrin, Hidroksipropil metil selüloz	5 x 10 ⁹	<i>S. boulardii</i> , <i>L. acidophilus/plantarum</i> <i>B. longum</i>
T.K. 9	Türkiye	Temmuz 2020	İzomalt, Mannitol	5 x 10 ⁹	<i>S. boulardii</i>
T.K. 10	Türkiye	Ekim 2019	Mikrokristalin selüloz, Mannitol, Vanilya, İzomalt, Magnezyum stearat	5 x 10 ⁹	<i>S. boulardii</i>
T.K. 11	Fransa	Nisan 2020	Laktoz monohidrat, Fruktoz	5 x 10 ⁹	<i>S. boulardii</i>

T.K.: Ticari Kültür, T.E.T.T.: Tavsiye Edilen Tüketim Tarihi

2.2 *S. boulardii* Suşlarının Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

2.2.1 Glukoz ve Galaktoz Fermantasyonu

Elde edilen izolatların karbonhidratları fermente etme yeteneğinin belirlenmesi Kurtzman vd. [63] tarafından belirtilen metotta bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır. Bu amaçla glukoz ve galaktoz (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Fermantasyon bazal ortamı için 1 litre saf su içinde 7,5 g pepton (Biolife, İtalya), 4,5 g yeast extract (Biolife, İtalya) ve %2 oranında karbonhidrat çözündürülmüştür. Yeterince koyu yeşil bir renk vermek için bromotimol mavisi eklenmiştir. Bromotimol mavisi stok çözeltisi, 50 mg / 75 mL saf sudur. 100 mL fermantasyon bazal ortamı başına 4 mL stok çözeltisi eklenmiştir. Ters çevrilmiş Durham tüpü (yaklaşık 6 mm x 50 mm) içeren 12 mm x 150 mm boyutundaki tüplere 2 mL bazal ortam çözeltisi koyulmuş ve 15 dk 121 °C'de steril edilmiştir. Otoklavlama işleminden sonra Durham tüplerinin içinde gaz oluşumu varsa el ile hafif yuvarlayarak gaz çıkartılmış ve cam tüplerin geriye kalan kısmı aseptik olarak fermentasyon bazal ortamıyla tamamlanmıştır. Fermentasyon bazal ortamına daha önceden aktifleştirilmiş olan taze kültürden %1 oranında ilave edilmiştir. Kültürlerin glikoz ve galaktozu fermente etme yeteneği 37 °C'de 10 gün boyunca takip edilmiş ve gaz oluşumu, glikoz ve galaktoz ortamında gelişimi belirlenmiştir. Tüpler, uçta gaz birikmesi için sık aralıklarla çalkalanmış ve denetlenmiştir ve eğer şekerler tüketilirse, gösterge rengi yeşilden sarıya değişmiş, fakat şekerler tüketilmezse ve mevcut amino asitler karbon kaynağı olarak kullanılırsa, ortam rengi maviye dönmüştür.

2.2.2 Askospor Formasyonunun Belirlenmesi

Elde edilen izolatların askospor oluşumları McClary vd. [64] tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. McClary asetat agar bileşimi (100 mL) potasyum asetat (%1) (Merck, Almanya), yeast extract (%0,25), dextrose (%0,1) (Dejung), agar (%3) (Merck, Almanya) şeklindedir. Önceden hazırlanan McClary Asetat Agar üzerine daha önceden aktifleştirilmiş kültürler platin özeyle sürülmüştür. Agarlar 25 °C'de 10 gün boyunca inkübe edilmiştir ve iki gün aralıklarla kontrol edilmiştir.

Askospor oluşumunun belirlenmesi için daha önce asetat agar üzerine sürülmüş tek koloniden alınmış ve mikroskop lamı üzerine yayılarak ateşle fikse edilmiştir. Preparat %5'lik malaşit yeşili ile 3 dk boyanmış ve saf su ile yıkanmış ardından %95'lik etil alkol ile 30 saniye dekolorize edilmiş ve tekrar saf su ile yıkanmıştır. Preparat daha sonar %5'lik safranin ile 30 saniye karşı boyama yapılmış ve saf su ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. İmmersiyon yağı ile mikroskop altında (100X) askospor oluşumu görüntülenmiştir. Mayanın vejetatif kısmı kırmızı şekilde görünürken, askosporlar yeşile boyanmış halde tetrahedral yapıda ya da doğrusal şekilde görünmüştür.

2.3 *S. boulardii* Suşlarının Tanımlanması

2.3.1 DNA İzolasyonu

YPD Broth (Difco, İtalya) ortamında 37 °C'de 24 saat boyunca geliştirilen kültürden 1 mL alınarak 10 dk boyunca santrifüj işlemi (8000 rpm) uygulanarak pellet toplanmıştır. Tüpteki süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra Tris EDTA (TE) tamponundan 450 µL hücre pelletine ilave edilmiş ve hücreler hafif karıştırma ile tampon içinde yeniden süspanse edilmiştir. %10'luk sodyum dodesil sülfat (SDS) 50 µL ve Proteinaz K'dan 2 µL ilave edildikten sonra bu karışım iyice vortekslenerek 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra fenol:kloroform:izoamil alkol (25:24:1) karışımından 0,5 mL içeriğe ilave edilip, tüpler baş aşağı çevrilerek iyice karıştırılmış ve 5 dk boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İçerik 4 °C'de 10 dk boyunca 8000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Süpernatant benzeri yüksek viskoziteli karışım otomatik pipet kullanılarak yeni bir tüpe aktarılmıştır. İşlem fenol:kloroform:izoamil alkol karışımı ile bir kez daha tekrarlanmıştır. Karışıma 5M'lık sodyum asetatdan 50 µL ilave edilmiş ve hafifçe karıştırılmıştır. İzopropanol'den 1 mL ilave edilmiş ve çöken DNA'nın beyaz iplikleri oluşana kadar ters çevrilerek hafifçe karıştırılmıştır. İçerik 10 dk boyunca 5000 rpm de santrifüjlenmiştir. Süpernatant uzaklaştırılmış ve 0,5 mL %70'lik etanol ilave edilmiştir. Yukarıdaki içerik 10 dk boyunca 5000 rpm'de santrifüj edildikten sonar 37 °C'de 5-10 dk kurutulup üzerine 100 µL steril distile su ilave edilerek süspanse edilmiştir. Elde edilen DNA kullanılıncaya kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.3.2 *S. boulardii* Suşlarının Mikrosatellit Amplifikasyonu

Polimorfik mikrosatellit lokusların amplifikasyonu için YLR177w geni seçilerek Tablo 2.2’de belirtilen Boul3 ve Boul4 primerleri uygun PZR koşullarında amplifiye edilmiştir [30, 52].

2.3.3 *S. boulardii* Suşlarının 26S rDNA Gen Sekansı ile Tanımlanması

S. boulardii suşları D1/D2 alanının amplifikasyonu için Tablo 2.2’de belirtilen NL-1 ve NL-4 primerleri uygun PZR şartlarında amplifiye edilmiştir [65]. Amplifikasyondan sonra, ampikonlar sekans analizi için Medsantek (İstanbul) firmasına gönderilerek sekanslama işlemi yapılmıştır. Suşlar yeast-genome fungal blast database kullanılarak tanımlanmıştır. Filogenetik analizler MEGA X paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve filogenetik ağaçlar Neighbour-joining metodu (NJ) kullanılarak oluşturulmuştur [66].

2.3.4 PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Görüntülenmesi

PZR ürünlerinin jel elektroforezinde kontrolü için konsantrasyonu %1 olan agaroz jeli 0,5 X Tris Borat EDTA (TBE) tamponu kullanılarak hazırlanmıştır. PZR ürününden 12,5 µL alınarak agaroz jeldeki kuyucuklara yüklenmiş ve TBE tamponu kullanılarak elektroforez işlemine bırakılmıştır (120 V 90 dk). Elektroforez işleminin ardından jeller 1 mg/L 'lik etidyum bromid çözeltisi içerisinde 15 dk bekletilerek jelde yüklü olan DNA parçacıklarının boyanması için beklenmiştir. Bu işlemin ardından jeller deiyonize su içerisinde kısa süre tutularak durulandıktan sonra UV Transilluminatör (Cleaver) kullanılarak UV ışık altında görüntülenmiştir. Vivantis (VC) 100 bç DNA Ladder her elektroforetik jelde DNA boyutlayıcısı olarak kullanılmıştır.

Tablo 2.2 *S. boulardii* suşlarının tanımlanmasında kullanılan primerler ve PZR koşulları

PZR Kontrolü			23S	
Primerler	Boul3	(5'-3')	NL-1	(5'-3')
	CTTAAACAACAGCTCCCAA		GCATATCAATAAGCGGAGGAA	AAG-3'
	Boul4	(5'-3')	NL-4	(5'-3')
	ATTTCTGATGCGCTGATTCAT		GGTCCGTGTTTCAAGACGG	
PZR Koşulları	Denatürasyon	94 °C 5 dk	Denatürasyon	95 °C 10 dk
	Denatürasyon	94 °C 30 s	Denatürasyon	94 °C 1 dk
	Bağlanma	50 °C 40 s	Bağlanma	54 °C 2 dk
	Uzama	72 °C 30 s	Uzama	70 °C 3 dk
	Son uzama	72 °C 7 dk	Son uzama	72 °C 7 dk
PZR Karışımı (50 µL için)	H ₂ O		36,35	
	DNA		1	
	5X Phusion Buffer		10	
	dNTP karışımı		0,4	
	Primer 1		1	
	Primer 2		1	
	Taq polimeraz		0,25	

2.3.5 FT-IR Spektroskopisi ile Tanımlama

Elde edilen izolatların FTIR ile tanımlanması Karaman vd. [67] tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Kısaca, maya izolatları YPD Agar üzerine sürme yöntemi ile aktiveleştirilmiştir. 48 saat sonra tek koloni seçilerek YGC (Yeast extract Glucose Chloramphenicol, Merck, Almanya) Agar üzerine drigalski spatülü ile yayılmış ve 27 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Steril öze yardımıyla yarım öze olacak şekilde hücreler toplanmış ve 100 µL steril saf suda çözündürülmüştür. Her bir süspansiyon ZnSe plate üzerine yayılarak 40°C'de 45 dk kurumaya bırakılmıştır. FTIR ölçümleri HTS-XT birimli Bruker Tensor 27 spektrometre (Bruker Optic GmbH, Almanya) kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar OPUS yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir.

2.4 Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi

2.4.1 Oto-agregasyon Yüzdesinin Belirlenmesi

S. boulardii suşlarının oto-agregasyon yüzdeleri Gil-Rodriguez vd. [68] tarafından belirtilen metot üzerinde bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Kısaca, maya hücreleri 7mL'lik YPD broth ortamına %1 oranında inoküle edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. 0., 2., 4. ve 24. saat dilimlerinde inoküle edilen ortamdan 1,2 mL alınarak 7000 rpm'de 4°C'de 15 dk santrifüjlenerek elde edilen pellet 2 defa steril %0,9 NaCl çözeltisi ile yıkanmıştır. Aynı hacimde tekrar süspansiyon edilerek spektrofotometrede OD_{600 nm} ölçülmüştür. Oto-agregasyon yüzdesi aşağıdaki matematiksel eşitlik 2.1 kullanılarak belirlenmiştir;

$$\text{Oto-agregasyon (\%)} = \left(1 - \frac{A_t}{A_0}\right) \quad (2.1)$$

A_t 2., 4. ve 24. zaman dilimlerindeki absorbans değerlerini, A₀ ise 0. zaman dilimindeki absorbans değerlerini göstermektedir.

2.4.2 Hücre Yüzey Hidrofobisitesinin Belirlenmesi

S. boulardii suşlarının hidrofobisite yeteneklerinin belirlenmesi Vinderola ve Reinheimer [69] tarafından belirtilen metot üzerinde bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Maya izolatları YPD ortamına %1 oranında inoküle edilmiş ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra 7000 rpm 4 °C'de 10 dk santrifüjlenerek

süpernatant uzaklaştırılmış, 50 mM K₂HPO₄ tampon çözeltisi ile iki defa yıkanarak aynı çözeltiyle tekrar süspansiyon OD_{600 nm}'de 1'e ayarlanmıştır. OD_{600 nm} ayarlanan süspansiyonların 560 nm'de absorbans değerleri okunmuştur (A₁). 3 mL maya süspansiyonu 0,6 mL hekzan, dietileter, *n*-hekzadekan ve ksilen ile muamele edilerek 2 dk boyunca vortekslenmiştir. Karışım iki farklı faz oluşana kadar 37 °C'de 20 dk inkübe edilmiştir. Sulu faz dikkatli bir şekilde çıkartılarak 560 nm'de absorbans değeri ölçülmüştür (A₂). Maya izolatlarının hidrofobisite (%) değerleri eşitlik 2.2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$H (\%) = \left[\left(\frac{A_1 - A_2}{A_1} \right) \right] * 100 \quad (2.2)$$

2.4.3 Düşük pH ve Safra Tuzu Toleransının Belirlenmesi

S. boulardii izolatlarının düşük pH ve safra tuzuna toleransının belirlenmesi İspirli vd. [70] tarafından belirtilen metot üzerinde bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Düşük pH'ya direncin belirlenmesi amacıyla 1 M HCl (Merck, Almanya) kullanılarak YPD ortamının pH'sı 1,5, 2,0, 2,5 ve 3,0 olarak ayarlanmıştır. Safra tuzuna toleransın belirlenmesi amacıyla da %0.3 safra tuzu YPD ortamına eklenmiştir. İnokülasyondan önce maya hücrelerinin OD₆₀₀ değerleri 1'e ayarlanmıştır ve 10 mL'lik YPD ortamlarına %1 oranında inoküle edilmiştir. Spektrofotometrede örneklerin absorbans değerleri 600 nm'de her dört saatte bir 24 saat boyunca ölçülerek düşük pH ve safra tuzu toleransları belirlenmiştir.

2.4.4 Gastrointestinal Koşullara Direncin Belirlenmesi

S. boulardii suşlarının simüle edilmiş gastrointestinal koşullara direnci Bonatsou vd. [71] tarafından belirtilen metot üzerinde küçük değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Sentetik mide ortamı tampon çözeltisi NaCl (2,05 g/L), KH₂PO₄ (0,60 g/L), CaCl₂ (0,11 g/L) ve KCl (0,37 g/L) kullanılarak oluşturulmuş, pH 2'ye ayarlanmış (1 M HCl kullanılarak) ve 121°C'de 15 dk otoklavlanmıştır. Kullanmadan önce pepsin (0,0133 g/L) ve lizozim (0,01 g/L) enzimleri eklenmiştir. *S. boulardii* kültürleri 24 saat boyunca YPD Broth ortamında geliştirilerek 4 °C'de 7000 rpm'de 10 dk. boyunca santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmış, elde edilen pellet enzim ilavesi yapılmamış steril tampon çözeltisi ile iki defa yıkanmıştır. *S. boulardii*

suşlarının OD₆₀₀ 1,0'e ayarlanarak sentetik mide ortamında süspanse edilmiş ve 37 °C'de 2,5 saat boyunca çalkalamalı inkübatörde inkübe edilmiştir. Son olarak kültürlerin seri dilüsyonları YPG Agar üzerine spot ekim tekniğine uygun olarak ekilerek 37 °C'de 48 saat inkübe edildikten sonra sayım yapılmıştır.

Sentetik pankreatik ortam safra tuzu (3,0 g/L), pankreatin (0,1 g/L), sodyum fosfat dibazik heptahidrat (50,81 g/L) ve NaCl (8,5 g/L) kullanılarak oluşturulmuş ve pH 8'e ayarlanmıştır (1 M HCl ile). Sentetik mide ortamına maruz kalan *S. boulardii* hücreleri yukarıdaki santrifüj koşullarına uygun olarak santrifüj edilerek pellet elde edilmiş ve sentetik pankreatik ortam sıvısı ile yıkanmıştır. Daha sonra aynı ortamda aynı hacimde tekrar süspanse edilmiş ve 37 °C'de 3 saat boyunca çalkalamalı inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kültürlerin seri dilüsyonları YPG Agar üzerine spot ekim tekniğine uygun olarak ekilerek 37 °C'de 48 saat inkübe edildikten sonra sayım yapılmıştır.

2.4.5 Antibiyotik Direncin Belirlenmesi

S. boulardii suşlarının antibiyotik direncinin belirlenmesi amacıyla bazı antibakteriyel ve antifungal antibiyotikler seçilmiştir; ampicillin (AM, 10 mcg), chloramphenicol (C, 30 mcg), ciprofloxacin (CIP, 5 mcg), doxycycline (DO, 30 mcg), erythromycin (E, 15 mcg), gentamicin (CN, 10 mcg), kanamycin (K, 30 mcg), oxytetracycline (T, 30 mcg), penicillin (P, 10 U), streptomycin (S, 10 mcg), tetracycline (TE, 30 mcg) and amphotericin B (AMB, 20 mcg), clotrimazole (CLT, 10 mcg), flucanazole (FLU, 25 mcg), ketoconazole (KTC, 10 mcg), nystatin (NY, 100 U) (Bioanalyse, Türkiye). *S. boulardii* suşlarının antibiyotik dirençleri İspirli vd. [70] tarafından belirtilen metot üzerinde bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Aktifleştirilmiş *S. boulardii* suşları YPD Broth ortamına %1 oranında inoküle edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra her bir suşun optik yoğunluk değeri OD₆₀₀'de 1,0'e ayarlanmıştır ve 100 µL hücre süspansiyonu YPD Agar ortamına yayılmıştır. Her bir petri dörde bölünerek 2 farklı antibiyotik disk petriler üzerine yerleştirilmiştir. Petriler 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra oluşan zonlar mm cinsinden ölçülmüştür.

2.4.6 Antifungal Aktivitenin Belirlenmesi

S. boulardii izolatlarının antifungal özelliklerinin belirlenmesi Demirbaş vd. [72] tarafından belirtilen metot üzerinde bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Antifungal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *Fusarium oxysporum*, ve *Alternaria alternata* küfleri kullanılmıştır. Bu amaçla belirtilen küfler 27°C'de *A. flavus*, *A. niger* ve *P. expansum* sporulasyon evresinde *F. oxysporum* ve *A. alternata* ise 5 günlük inkübasyon periyodu boyunca Malt Agar (Neogen Culture Media) besiyerinde geliştirilmiştir. Maya izolatları ise %1 oranında YPD broth ortamına inoküle edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra malt agar besiyerine %1 oranında tekrar inoküle edilerek agarlar petri kutularına dökülmüştür. Maya içeren agarlar katılaştıktan sonra, belirtilen küfler 2 numaralı delgeç kullanılarak aseptik olarak kesilmiş ve steril pens kullanılarak delgeçten çıkarılan maya içeren malt agar parçası besiyerine koyulmuştur. Aynı şekilde kontrol grubu olarak da maya içermeyen malt agar besiyerine sadece küf koyulmuştur. Küflerin gelişimi 48 saatlik inkübasyon sonunda ölçülerek aşağıdaki eşitlik 2.3 yardımıyla % inhibisyon oranı belirlenmiştir.

$$\text{İnhibisyon oranı (\%)} = [1 - (A_1 - A_2)] * 100 \quad (2.3)$$

A₁ maya içermeyen kontrol grubundaki küflerin gelişimini, A₂ ise maya içeren ortamdaki küflerin gelişimini göstermektedir.

2.4.7 Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi

Aktifleştirilmiş *S. boulardii* suşları 30 mL YPD Broth ortamına inoküle edilerek 37°C 'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 10 dk. 7000 rpm ve 4°C'de santrifüj edilerek süpernatant elde edilmiş ve 0,22 µm filtre kullanılarak filtre edilmiştir. Elde edilen *S. boulardii* ekstraktları liyofilize edilmiş ve steril saf suda üç farklı konsantrasyonda çözündürülmüştür (1:1, 1:2 ve 1:5 g/mL) [58].

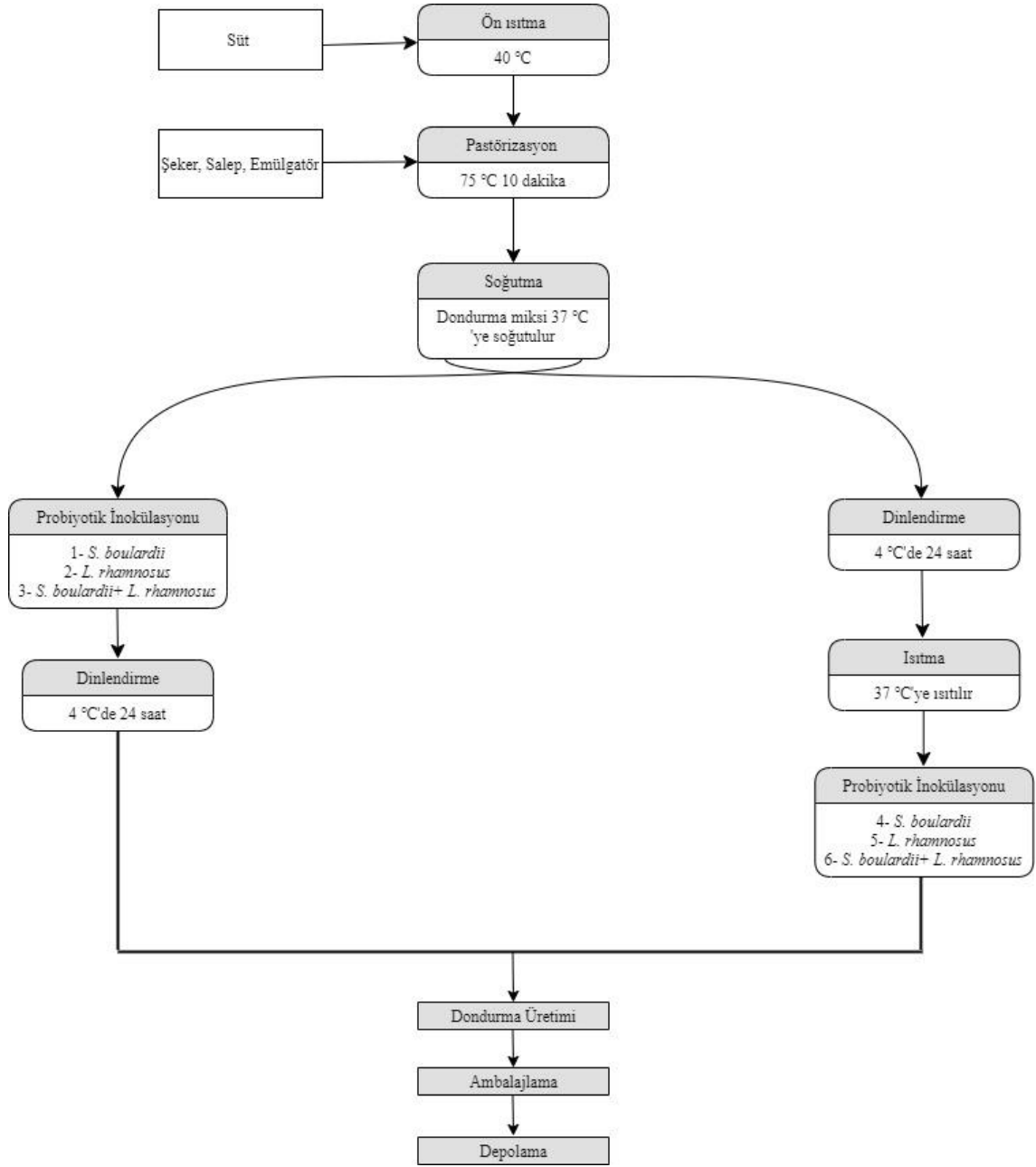
Antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi amacıyla *Bacillus cereus* BC 6830, *Escherichia coli* BC 1402, *Salmonella* Typhimurium RSSK 95091, *Staphylococcus aureus* ATC 25923, *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729 patojen bakterileri seçilmiş ve agar difüzyon metodu kullanılarak belirlenmiştir [73]. Aktifleştirilmiş patojen bakteriler Tryptic Soy Agar (Merck, Almanya) ortamına %1 oranında inoküle

edilerek petrilere dökülmüştür. Steril corck borer kullanılarak her bir petride 10 mm çapında 3 kuyucuk açılmış ve 100 µL *S. boulardii* ekstraktları belirtilen konsantrasyonlarda kuyucuklara ilave edilmiştir. Petriler 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra oluşan zonlar mm cinsinden ölçülerek antibakteriyel aktivite belirlenmiştir.

2.5 Probiyotik Dondurma Üretim Prosesi

Dondurma formülasyonu ve örneklerin üretimi Kurt vd. ve Durmaz vd. [74, 75] tarafından belirtilen metot üzerinde bazı değişiklikler yapılarak (Delonghi, II Gelataio, ICK500, Çin) marka dondurma cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Dondurma üretim prosesinin akış diyagramı ve formülasyon Şekil 2.1 ve Tablo 2.3'te yer almaktadır. Stabilizatör olarak salep, emülgatör olarak ise mono ve digliseritler kullanılmıştır.

Probiyotik dondurma üretimi amacıyla *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* kültürleri seçilmiştir. Her iki probiyotik kültür daha önceden bir kez aktifleştirilerek dondurma üretiminde kullanılmak üzere daha yüksek hacimde tekrar geliştirilmiştir. *S. boulardii* 600 mL YPD ortamına %2,5 oranında inoküle edilerek 37°C'de 48 saat çalkalamalı inkübatörde aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. *L. rhamnosus* ise 500 mL MRS ortamına %1 oranında inoküle edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Her iki kültür inkübasyondan sonra 6000 rpm'de 10 dk 24°C'de santrifüjlenerek pellet toplanmış ve elde edilen pellet steril %0,9 NaCl çözeltisi ile iki defa aynı santrifüj koşullarında yıkanmıştır. Elde edilen pellet dondurma miksiye dinlendirme öncesi ve dondurma sonrası olmak üzere iki farklı aşamada birlikte ve ayrı ayrı olacak şekilde inoküle edilmiştir. İnokülasyondan sonra karışım 30 dk boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Homojen dondurma miksi dondurma cihazına koyularak probiyotik dondurma üretimi gerçekleştirilmiştir [61].



Şekil 2.1 Probiyotik dondurma üretim akış şeması

Tablo 2.3 Probiyotik dondurma formülasyonu

inokülasyon türü	Dondurma	Süt (mL)	Şeker (g)	Salep (g)	Emülgatör (g)	Probiyotik mikroorganizma	Probiyotik inokülasyonu (kob/mL)
Dinlendirme öncesi	D1	250	62,5	1,875	0,625	<i>S. boulardii</i>	2,4 x 10 ⁷
	D2	250	62,5	1,875	0,625	<i>L. rhamnosus</i>	1,9 x 10 ¹¹
	D3	250	62,5	1,875	0,625	<i>S. boulardii</i>	3,0 x 10 ⁷
						<i>L. rhamnosus</i>	8,0 x 10 ⁹
Dinlendirme sonrası	D4	250	62,5	1,875	0,625	<i>S. boulardii</i>	4,0 x 10 ⁷
	D5	250	62,5	1,875	0,625	<i>L. rhamnosus</i>	7,4 x 10 ⁹
	D6	250	62,5	1,875	0,625	<i>S. boulardii</i>	2,0 x 10 ⁷
						<i>L. rhamnosus</i>	1,2 x 10 ¹⁰
	Kontrol	250	62,5	1,875	0,625	---	---

2.5.1 Probiyotik Dondurma Örneklerinin Fizikokimyasal Analizleri

2.5.1.1 Kuru Madde Miktarının Belirlenmesi

Cam petriler 105°C'de 1 saat kurutulduktan sonra darası alınan (K₁) petrilere probiyotik dondurma örneklerinden 1-1.5 g tartılmış (K₂) ve 105°C'de etüvde 24 saat kurutulmuştur. Kurutulan örnekler desikatörde soğutulduktan sonra tartılmıştır (K₃). Örneklerin % kuru madde değerleri formül 2.4 ile belirlenmiştir [76].

$$\% \text{ Kuru madde} = \frac{K_3 - K_1}{K_2 - K_1} \times 100 \quad (2.4)$$

2.5.1.2 Titrasyon Asitliğinin Belirlenmesi

Probiyotik dondurma örneklerinde titrasyon asitliği Kurt vd. [76] tarafından belirtilen metot üzerinde bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. 1 g dondurma örneği 1:2 oranında saf su ile homojenize edilerek 3 damla fenolftalein indikötörü damlatılmış olup 0,1 N NaOH ile hafif pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Sonuçlar % laktik asit cinsinden aşağıdaki eşitlik 2.5 yardımıyla belirlenmiştir.

$$\text{Asitlik (\%, laktik asit)} = \frac{N \times \text{Sarfiyat} \times 0.009 \times 100}{\text{Örnek miktarı (g)}} \quad (2.5)$$

2.5.1.3 Yağ Miktarının Belirlenmesi

Probiyotik dondurma örneklerinin yağ miktarı bütirometre kullanılarak Gerber yöntemiyle belirlenmiştir [76].

2.5.1.4 Protein Miktarının Belirlenmesi

Probiyotik dondurma örneklerinin protein miktarı Kjeldahl yöntemiyle belirlenmiştir [76].

2.5.1.5 pH Değerlerinin Belirlenmesi

Dondurma örnekleri oda sıcaklığında 30 dk bekletilerek eritilmiş ve örneklerin pH değerleri Mettler Toleda (Seven Compact) pH metre cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

2.5.1.6 Hacim Artışının (Overrun) Belirlenmesi

Probiyotik dondurma örneklerinin hacim artışını belirlemek için, örnekler, darası tespit edilen ölçülü silindir içine belli hacme kadar boşluk kalmayacak şekilde doldurulmuş ve hassas terazide tartılmıştır. Probiyotik dondurma örnekleri tamamen sıvı forma geçene kadar oda sıcaklığında erimeye bırakılmıştır ve eriyen dondurma miksi silindir içine aynı hacme kadar tamamlanarak hassas terazi ile tartılmıştır. Dondurma örneklerinin hacim artışı aşağıdaki eşitlik 2.6 yardımıyla hesaplanmıştır [76].

$$\text{Hacim artışı (\%)} = \left(\frac{\text{Dondurma kütlesi} - \text{Miks kütlesi}}{\text{Dondurma kütlesi}} \right) \times 100 \quad (2.6)$$

2.5.2 Probiyotik Canlı Sayımı

Dondurma örneklerinde probiyotik mikroorganizma sayımı yayma ekim tekniğine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. 1 g örnek 9 mL %0,9 NaCl çözeltisinde homojenize edilerek seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan 100 µL *S. boulardii* için YPD Agar ve *L. rhamnosus* için MRS Agar ortamlarına inoküle edilerek drigalski spatülü yardımıyla yayılmıştır. 37°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra canlı mikroorganizmalar sayılarak kob/g cinsinden ifade edilmiştir. Dondurma örneklerinde probiyotik mikroorganizma sayımı 4 gün aralıklar ile yapılmıştır.

2.5.3 Renk Özelliklerinin Belirlenmesi

Renk değerleri olarak belirtilen L*, a* ve b* (CR-400 ChromaMeter, Konica, Minolta, Japonya) renk cihazı kullanılarak belirlenmiştir [77]. L* değeri parlaklığı (0-100), a* değeri kırmızıdan (+) yeşile (-) olan renk değişimini, b* değeri ise sarıdan (+) maviye (-) olan renk değişimini belirtmektedir.

2.5.4 Erime Özelliklerinin Belirlenmesi

Dondurma örneklerinin erime davranışı Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) (TA Instrument Q100, New Castle, USA) kullanılarak belirlenmiştir [78]. 10-15 mg örnek alüminyum panlara koyularak hermetik olarak kapatılmıştır. -30°C'den +20°C'ye dakika da 5°C artacak şekilde belirlenmiştir. Analiz iki paralel olacak şekilde yürütülmüştür.

2.5.5 Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Dondurma mikslерinin reolojik özellikleri Dertli vd. [79] tarafından belirtilen metoda göre belirlenmiştir. Reolojik özellikler 5°C'de reometre cihazı (Anton Paar, MCR 302, Avusturya) kullanılarak, ölçüm mesafesi 0,5 mm olacak şekilde 50 mm'lik prob ile gerekli ölçümler yapılmıştır. Prob ile alt tabaka arasındaki sıcaklık dengeye gelmesi ve örneğin kendine gelmesi için prob 0,5 mm'ye indikten sonra analiz öncesinde örnek 2 dk bekletilmiştir. Dondurma miksi örneklerinin reolojik özellikleri 25 noktada ölçüm alarak 0,1-100/s kesme hızı (shear rate) uygulanarak belirlenmiştir ve kesme hızına karşılık kayma gerilmesi (shear stress) değerleri elde edilerek örneklerin akış davranışları belirlenmiştir. Analiz sonucunda elde edilen

veriler Ostwald de Waele modeline uyarlanarak ilgili parametreler aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\sigma = K(\dot{\gamma})^n$$

σ değeri kayma gerilimini (Pa), K değeri kıvam katsayısını (Pa.sⁿ), $\dot{\gamma}$ değeri kayma hızını (1/s) ve n değeri ise akış davranış indeksini göstermektedir.

2.5.6 Uçucu Bileşenlerin Belirlenmesi

Probiyotik dondurma örneklerinin uçucu bileşen analizi GCMS-QP2010 (Shimadzu, Milan, İtalya) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizlerde CTC-Combi-PAL-otosampler (Bender ve Hobein, Zürih, İsviçre) oto-örnekleyici kullanılmıştır. Kromatografik ayırım Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) silika kolon, taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tepe boşluğu analizleri, katı faz mikroekstraksiyon fiberleri (DVB/CARBOXEN-PDMS) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 4,6 g olarak tartılan probiyotik dondurma örnekleri 20 mL'lik tepe boşluğuna sahip viallere konulmuştur. Vialler oto-örnekleyici tarafından ısıtılarak 15 dk boyunca 70 °C'de çalkalanmıştır. Tepe boşluğu oto-örnekleyicinin inkübasyon sıcaklığı 70°C, inkübasyon süresi 15 dk, enjeksiyon sıcaklığı 70°C, çalkalama hızı 500 rpm, enjeksiyon hacmi 1000 µL, dolum hızı 200 µL/s, enjeksiyon hızı 350 µL/s olarak ayarlanmıştır. GC-MS sistemine 0,5 mL tepe boşluğu numunesi verilmiştir. Sıcaklık programı 3 dk 40°C, 8 dk 40–176°C ve 20 dk 176°C olacak şekilde kullanılmıştır. Enjektörün sıcaklığı 150°C'de sabit tutulmuştur. Basınç 95,8 kPa ve lineer hız 47,1 cm/s, taşıyıcı gaz akış hızı 1,71 mL/dk olarak ayarlanmıştır. Ara yüzey sıcaklığı 280°C ve iyon kaynağı sıcaklığı 230°C olarak kullanılmıştır. Kütle spektrometresi seçili iyon-izleme modunda, elektron iyonizasyon dedektörünün voltajı 70 eV'a ayarlanmış ve bilgiler 35–550 m/z aralığında toplanmıştır. Elde edilen toplam iyon kromatogramları cihazın sahip olduğu ticari kütüphaneler ile (NIST27 ve WILEY7) eşleştirilerek tanımlama doğruluğu %90 üzerinde olan uçucu bileşenler sonuç olarak kabul edilmiştir [80].

2.5.7 Duyusal Değerlendirme

Probiyotik dondurma örneklerinin duyusal değerlendirmesi hedonik skala kullanarak Soukoulis vd. [81] tarafından belirtilen metot üzerinde bazı değişiklikler

yapılarak gerçekleştirilmiştir. Panelistlere konunun amacıyla ilgili bilgi verildikten sonra duyuşal değerdendirme yapmaları istenmiştir. Panelistlerin dağılımı yüksek lisans, doktora ve akademisyen olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Panelistlerden her bir örnekten sonra ağızlarını su ile temizlemeleri istenmiştir. Dondurma örneklerinin beğenilme derecesi; renk, yapı, tat, koku, erime, yabancı tat ve genel kabul edilebilirlik açısından 1 ile 5 puan arasında değışen bir ölçekte değerdendirmeleri istenmiştir. Örneklerin beğenilme derecesi; renk/görünüş, koku, tat/lezzet, buzlu yapı, erime kalitesi, yabancı tat ve genel kabul edilebilirlik açısından 1 ile 5 puan arasında değışen bir ölçekte değerdendirilmiştir (1: çok kötü, 2: beğenmeme, 3: çok kötü değil, 4: iyi ve 5: çok iyi).

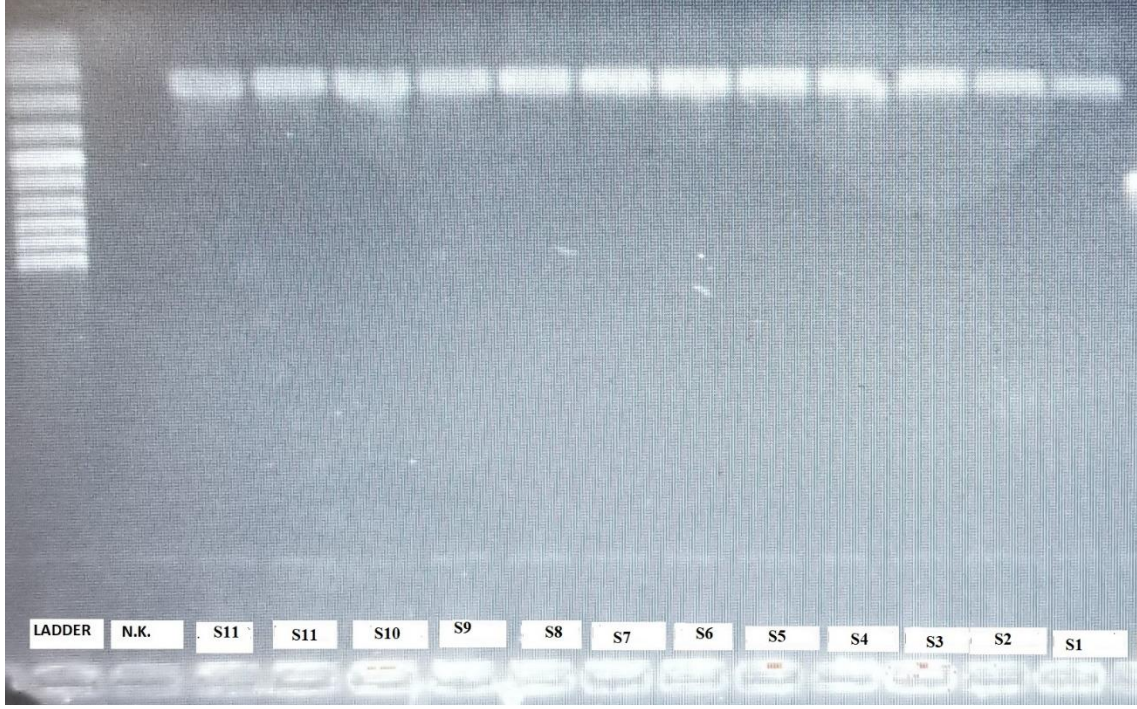
2.6 İstatistiksel Analiz

Tüm analiz sonuçları en az iki paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerin ortalama değerdeleri ve standart sapmaları hesaplanarak tablo ve grafikler oluşturulmuştur. İstatistiksel analizin gerçekleştirilmesi amacıyla JMP 15.2.1 yazılım programı kullanılmıştır. Farklılıkların belirlenmesi amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) Student's t testi kullanılmıştır ($P \leq 0,05$).

3.1 *S. boulardii* Suşlarının Tanımlanma Sonuçları

S. boulardii son yıllarda hem probiyotik olarak kullanımı nedeniyle hemde yakın zamanada kadar taksonomik pozisyonunun belirlenmesiyle ilgili tartışmalardan dolayı ilgi görmüştür [52]. 1990'lı yapılan çalışmalarda *S. boulardii*'nin hem *S. cerevisiae* hemde diğer maya türlerinden farklı bir tür olarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermiştir [82]. Daha sonra PCR polimorfizmine dayalı yapılan çalışmalar önceki çalışmaların hatalı olduğunu ve *S. cerevisiae* ile *S. boulardii* arasında %95 üzerinde benzerlik olduğunu göstermiştir [83, 84]. 2000'li yıllarda türe özgü primerlerle yapılan çalışmalar sayesinde çok sayıda *Saccharomyces* suşu analiz edilerek belirtilen anlaşmazlık açıklığa kavuşturulmuştur [85]. Elde edilen sonuçlar kesin olarak *S. boulardii*'nin tüm suşlarının *S. cerevisiae* türüne ait olduğunu ve *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* olarak isimlendirilmesi gerektiğini göstermiştir [32, 52].

S. boulardii içeren on bir ticari üründen izolasyon yapılarak DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA'lar ile Boul3 ve Boul4 primer çiftleri kullanılarak uygun PZR şartlarında spesifik gen bölgeleri çoğaltılmıştır [52]. Şekil 3.1'de *S. boulardii*'ye özgü primer çifti ile başarılı bir şekilde elde edilen jel elektroforezi görüntüleri yer almaktadır. Genotipik olarak test edilen tüm suşların *S. boulardii* için spesifik olan mikrosatellite allel genine sahip olduğu belirlenmiştir [30, 52].

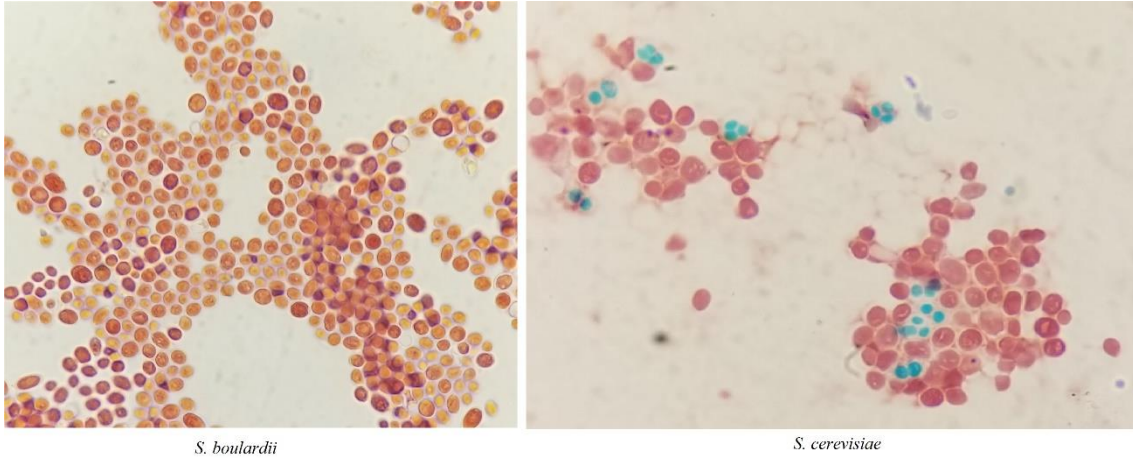


Şekil 3.1 *S. boulardii* suşlarının PZR jel elektroforez görüntüsü

S. boulardii galaktozu fermente edememesi veya *S. cerevisiae*'ye göre daha yavaş fermente etmesi ve askospor oluşturmaması gibi özellikler bakımından *S. cerevisiae*'den ayrılmaktadır [28, 53]. *S. boulardii* suşları hem glikoz ve galaktoz fermentasyonları hem de askospor oluşturma yetenekleri daha önce tanımlanmış olan *S. cerevisiae* ile kıyaslanmıştır. Ticari ürünlerden izole edilen *S. boulardii* suşlarının 10 günlük inkübasyon periyodu boyunca galaktozu fermente edemediği, ancak *S. cerevisiae*'nin galaktozu fermente edebildiği görülmüştür (Şekil 3.2). *S. cerevisiae* suşunun beklenildiği gibi askospor oluşturduğu buna karşın *S. boulardii* suşlarının ise askospor oluşturmadağı belirlenmiştir (Şekil 3.3).

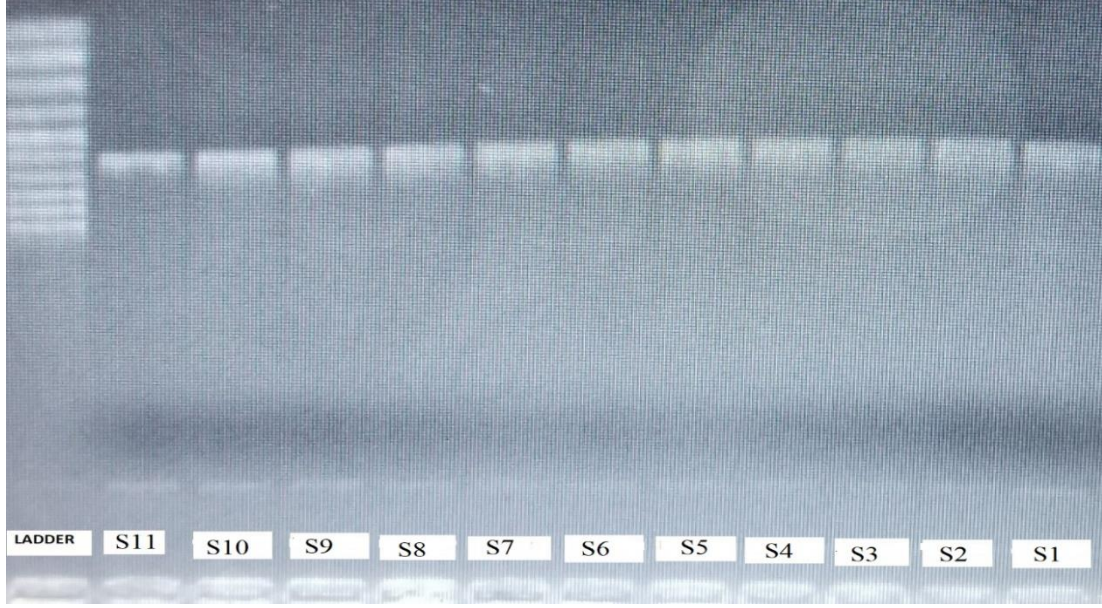


Şekil 3.2 *S. boulardii* suşlarının glukoz-galaktoz fermentasyonu

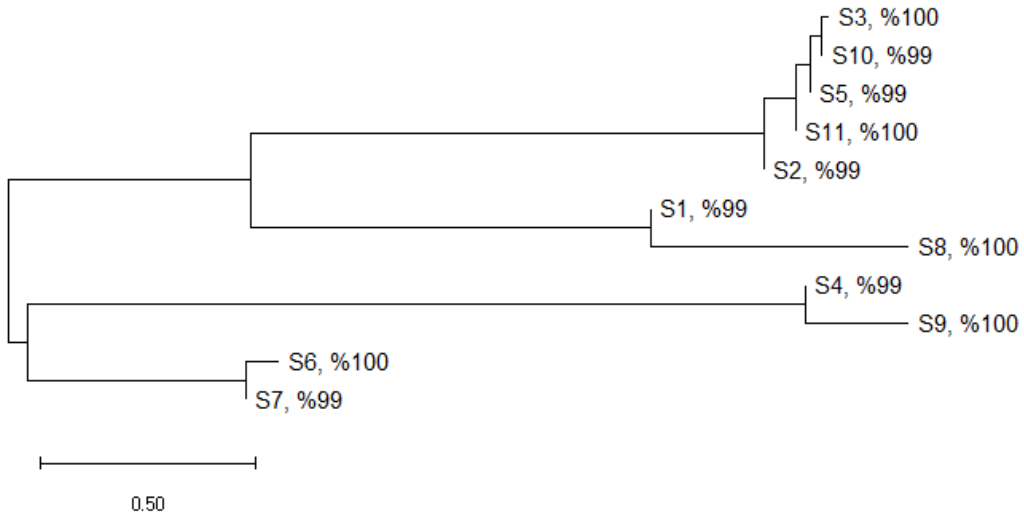


Şekil 3.3 *S. boulardii* ve *S. cerevisiae* suşlarının askospor oluşumları

S. boulardii suşları 26S rDNA PZR işlemi ile amplifiye edilmiş ve sekanslama işlemi için Medsantek Laboratuvar Malzemeleri San. ve Tic. Ltd. Şti. (İstanbul) firmasına gönderilmiştir. Şekil 3.4'te *S. boulardii* suşlarına 26S geninin PZR ile amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü yer almaktadır. Sekanslama işleminin ardından DNA gen dizilimleri (<https://www.yeastgenome.org/blast-fungal>) veri tabanına yüklenerek *S. boulardii* ile olan benzerlikleri % olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, 26S rDNA ile tanımlaması yapılan tüm suşların *S. boulardii* suşu olduğu doğrulanmıştır. Elde edilen ürünlerin filogenetik analizi MEGA-X paket programında Neighbour-joining (NJ) metodu kullanılarak Saitou ve Nei [66] filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Şekil 3.5).



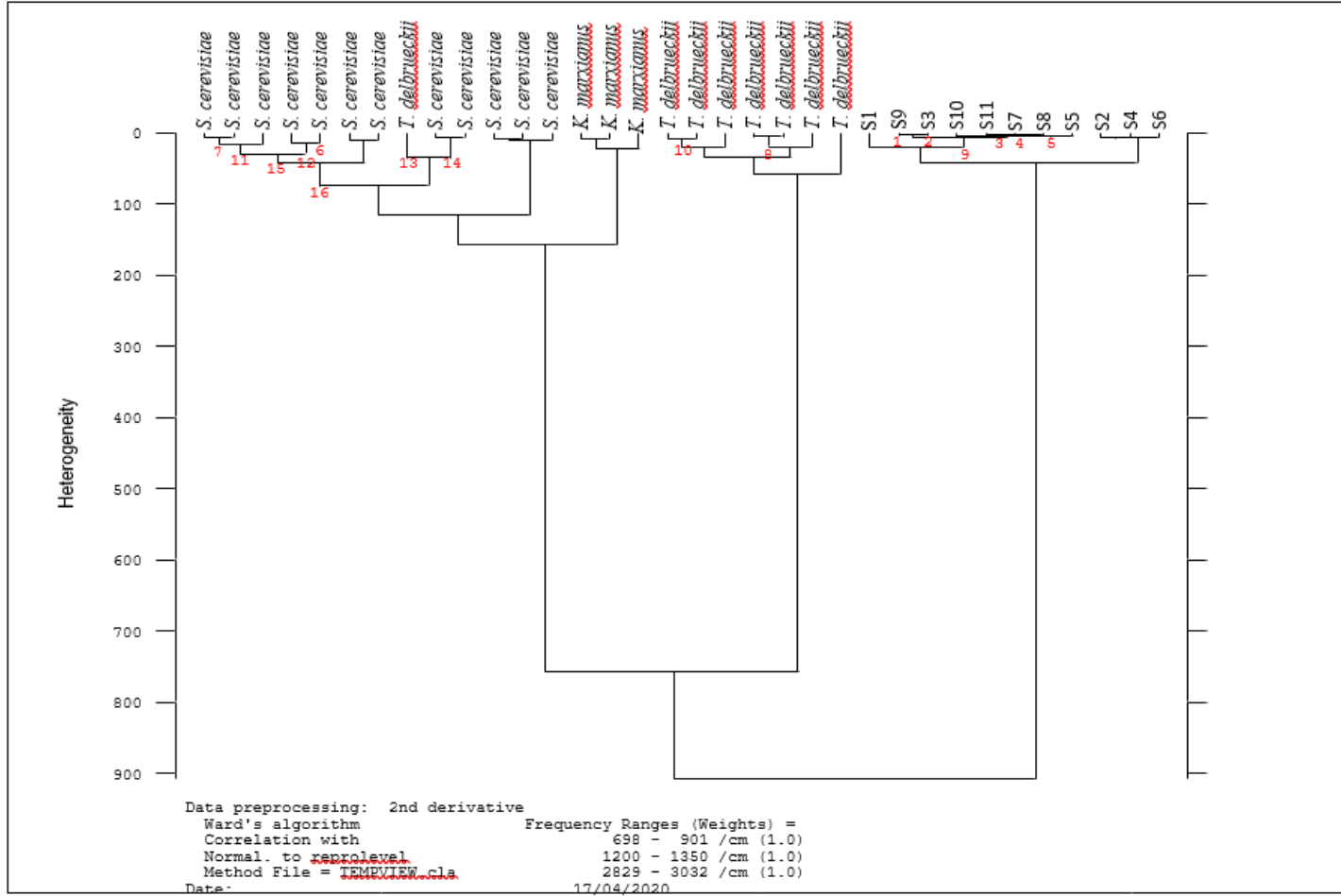
Şekil 3.4 *S. boulardii* suşlarının 26S geninin amplifikasyonunu gösteren agaroz jel görüntüsü



Şekil 3.5 *S. boulardii* suşlarının 26S sekanslarına bağlı olarak filogenetik ilişkisini gösteren Neighbour-joining (NJ) metodu ile oluşturulmuş dendrogram

Şimdiye kadar mikrobiyal türlerin ayırt edilmesinde birçok farklı teknik kullanılmıştır ve yakın zamanlarda ise FT-IR spektroskopisi güvenilir ve hızlı bir tanımlama tekniği olarak önem kazanmıştır [86, 87]. DNA tabanlı tanımlama yöntemleriyle kıyaslandığında, bu parmak izi tekniği mikrobiyal türleri tanımlamak

için IR radyasyonunun emilimine maruz kalan hücrelerin genel kimyasal bileşimini hedeflemektedir [86]. FT-IR tekniği ile mikroorganizmaların tanımlanmasının %90'dan daha yüksek oranda doğruluk gösterdiği belirtilmiştir [86, 88, 89]. Bu teknik ayrıca maya türlerinin tanımlanması içinde kullanılabilir [89]. *S. boulardii* suşları on iki *S. cerevisiae*, sekiz *Torulospira delbrueckii* ve üç *Kluyveromyces marxianus* referans suşları ile FT-IR analizi yapılmıştır. *S. boulardii* suşlarının *S. cerevisiae* de dahil olmak üzere test edilen diğer maya türlerinden ayırt edilebildiğini ortaya koymuştur (Şekil 3.6). FT-IR analizi sayesinde *S. boulardii* diğer mayalardan başarı ile ayırt edebilmiş ve test edilen diğer maya suşlarına kıyasla farklı bir küme bölgesi oluşturmuştur.



Şekil 3.6 *S. boulardii* suşlarının diğer maya türlerine yakınlıklarını gösteren FT-IR dendrogramı

3.2 *S. boulardii* Suşlarının Probiyotik Özellikleri

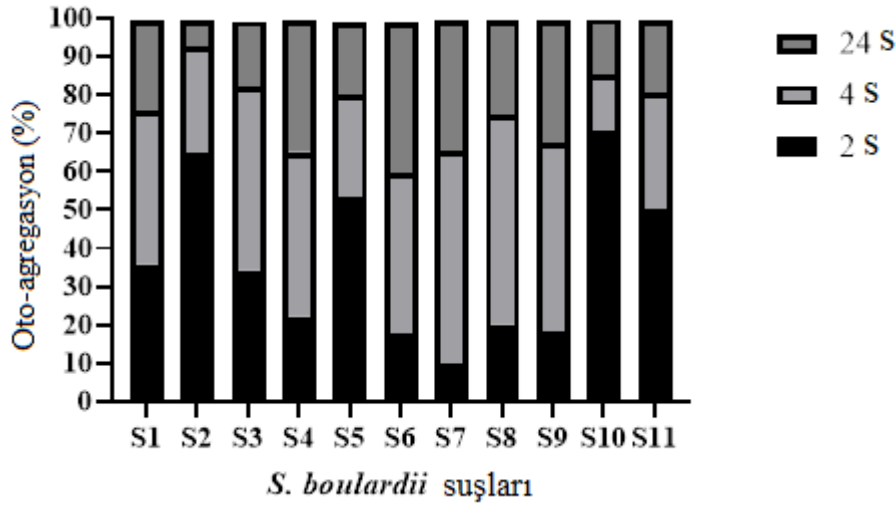
3.2.1 Oto-agregasyon Sonuçları

Potansiyel probiyotik mikroorganizmada aranan özelliklerden bir tanesi hücrelerin agregasyon yeteneğidir, çünkü agregasyon bağırsağa mikrobiyal tutunmayı arttırmaktadır [90]. Probiyotik mikroorganizmaların yüksek oto-agregasyon özellikleri, bağırsak mukozasına bağlanmaları için önemlidir [91]. Daha yüksek oto-agregasyon, daha fazla tutunmaya neden olabilir [92]. Maya hücreleri bakteri hücrelerinden daha büyük ve daha ağırdır, böylece daha hızlı ve daha yüksek oranda çökmektedir [68].

Şekil 3.7’de görüldüğü gibi *S. boulardii* suşlarında en yüksek oto-agregasyon yüzdesine 24. saatte ulaşılmıştır. 2 saatlik inkübasyon periyodu boyunca suşların agregasyon yüzdeleri %10,00 ile %70,59 arasında değişmiş olup en yüksek agregasyon yeteneği S10, S2 ve S5 suşlarında tespit edilmiştir (70,59, 64,71 ve 53,25, sırasıyla). S2, S10 ve S3 suşlarında 4 saatlik inkübasyon periyodu sonunda en yüksek agregasyon yüzdesi belirlenmiştir (92,68, 85,68 ve 82,14, sırasıyla). Suşların agregasyon yüzdeleri 24 saatlik inkübasyon periyodu sonunda %100’e yaklaşmış olup bu durum probiyotik bir mikroorganizma için istenilen bir özelliktir. En yüksek agregasyon yeteneğine sahip suş olarak %99,60 ile S10 belirlenmiştir.

Bizim çalışmamızda olduğu gibi, Gil-Rodriguez vd. tarafından [68] maya kültürlerinin 2 saatlik inkübasyon için yüksek düzeyde değişkenlik gösterdiğini ve 4 saatlik inkübasyon sonunda yüksek agregasyon yüzdelerine ulaştığı bildirilmiştir. İki farklı *S. boulardii* suşunun agregasyon yüzdelerinin 2 saatlik inkübasyon için %30,59 ve 42,86 olduğu belirtilmiştir [93]. *S. boulardii* dahil tüm maya izolatlarının 2 saatlik inkübasyon için %16’dan daha düşük agregasyon kapasitesi gösterdiğini ve 24 saatlik inkübasyondan sonra %96’ya ulaştığı bildirilmiştir [94]. Oliveira vd. [95] yaptıkları çalışmada *S. boulardii*’yi kontrol suş olarak kullanmışlardır ve 2 saatlik inkübasyon için %25,5 agregasyon kapasitesine ulaştığını, 4 ve 24 saatlik inkübasyondan sonra %34,75 ve 77,05 agregasyon kapasitesine ulaştığını belirtmişlerdir. Agregasyon, hücre yüzeyinin fiziko-kimyasal özellikleri, ortamdaki Ca²⁺ iyonlarının veya mannoz varlığı, inoküle edilen kültürün inkübasyon süresi veya uygulanan yöntemlerin farklı olması gibi çeşitli faktörlere bağlıdır [96, 97].

Yapılan çalışmalar *S. boulardii* suşlarının agregasyon yeteneklerinin farklı olduğunu göstermektedir. Bu çalışmayla birlikte ilk defa *S. boulardii* suşlarının agregasyon yetenekleri kendi arasında kıyaslanmıştır. Elde edilen veriler ışığında bu farklılıkların nedeni olarak çalışmalarda kullanılan suşların veya uygulanan metotların farklı olması ve çevresel faktörlerin etkili olabileceği düşünülmektedir.



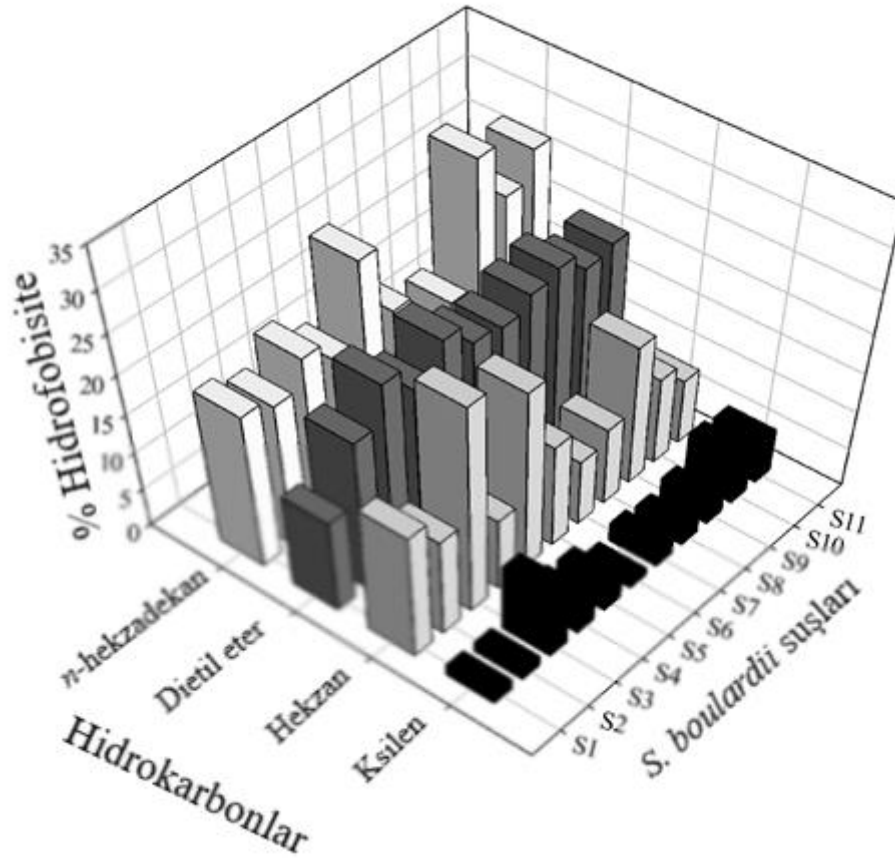
Şekil 3.7 *S. boulardii* suşlarının oto-agregasyon yüzdeleri

3.2.2 Hücre Yüzey Hidrofobisitesi Sonuçları

Hidrofobisite, mikroorganizmaların probiyotik potansiyellerinin belirlenmesinde sıklıkla tercih edilen parametrelerden bir tanesidir [98]. Mikroorganizmaların hidrofobik karakteri, konakçının dokularına tutunması için önemli bir özelliktir [99, 100]. Bu özellik, probiyotik mikroorganizmalara gastrointestinal sistemde rekabet avantaj sağlamaktadır [101]. Hidrofobisitenin belirlenmesi için çeşitli yöntemler geliştirilmiş olup bunlardan yaygın olarak tercih edilen *n*-heksadekan, ksilen, hekzan ve dietil eter gibi farklı hidrokarbonlara mikrobiyal tutunmadır [100].

S. boulardii suşlarının hidrofobisitesi dört farklı hidrokarbon, hekzan, dietil eter, ksilen ve *n*-heksadekan, ile belirlenmiş olup Şekil 3.8’de gösterilmiştir. Suşların hidrofobisite yüzdeleri hidrokarbonlara göre değişmiş olup en yüksek hidrofobisite yüzdeleri *n*-heksadekan hidrokarbonunda %30,57, 28,22 ve 27,31 ile S9, S5 ve S11 suşlarında, en düşük hidrofobisite yüzdeleri ise ksilen hidrokarbonunda %0,99, 1,38 ve 1,47 ile S6, S2 ve S1 suşlarında belirlenmiştir. Genel olarak tüm suşlarda en

yüksek hidrofobisite yüzdesi *n*-hekzadekan hidrokarbonunda, en düşük hidrofobisite yüzdesi ise ksilen hidrokarbonunda belirlenmiştir. S3 suşu, hekzan, dietil eter ve ksilen hidrokarbonlarında en yüksek hidrofobik karakter gösteren suş olmasına rağmen en yüksek hidrofobik karakter *n*-hekzadekan ile S9 suşunda belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar *S. bouldardii* suşlarının hidrofobisite değerlerinin hidrokarbonlara göre değiştiğini göstermiştir.



Şekil 3.8 *S. bouldardii* suşlarının hücre yüzey hidrofobisiteleri

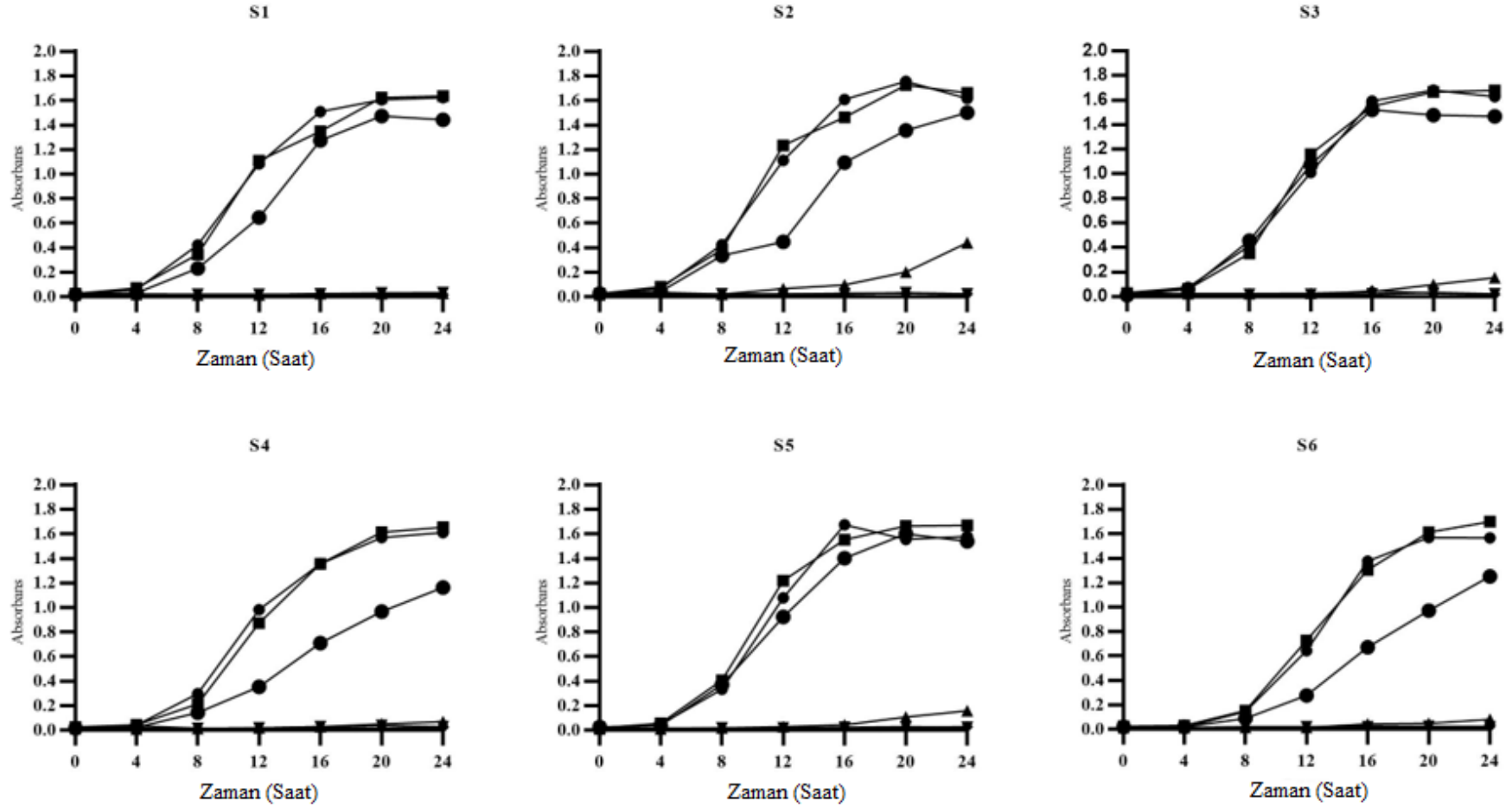
Menezes vd. [102] tarafından yapılan çalışmaya göre *S. bouldardii* *n*-hekzadekan için %99,4 hidrofobisite göstermiştir. Hidalgo vd. [103] dört farklı mayanın hidrofobisitelerini karşılaştırmışlar ve en yüksek hidrofobisite yüzdesini kloroform ve *n*-hekzadekan'da belirlemişlerdir ve bizim çalışmamızda olduğu gibi *S. bouldardii* için en düşük hidrofobisite yüzdesini ksilen de belirlemişlerdir. İki farklı *S. bouldardii* suşunun hidrofobisite yüzdesini %15,58 ve %21,18 olarak *n*-hekzadekan

da bulmuşlardır [93]. Kaushik vd. [104] hidrofobisite yüzdelerindeki farklılıkların, bir türün suşları arasındaki hücre yüzey proteinlerinin ekspresyon seviyesinin yanı sıra çevresel koşullarla da ilişkili olabileceğini ifade etmişlerdir.

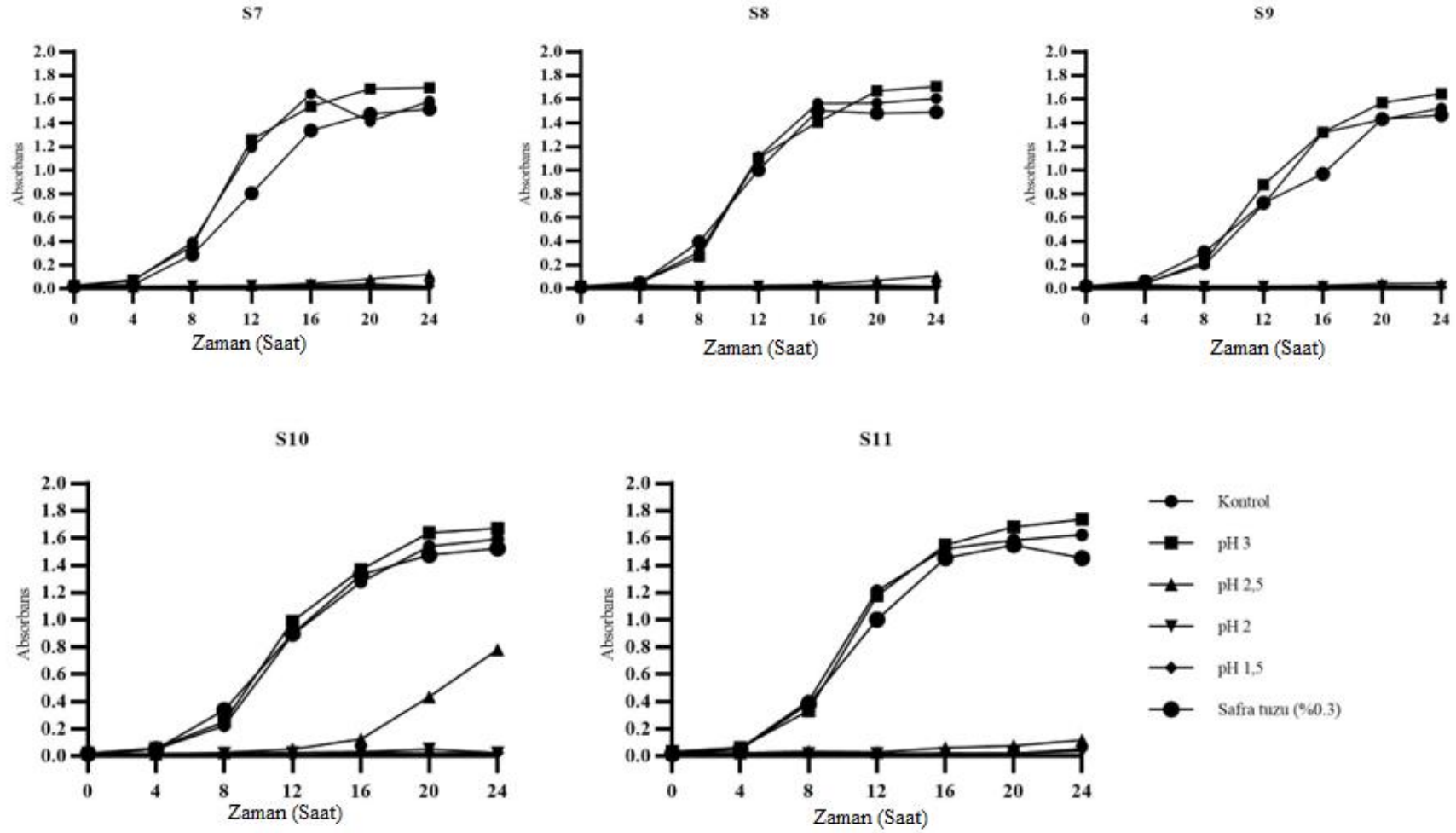
3.2.3 Düşük pH ve Safra Tuzlarına Tolerans Sonuçları

Probiyotikler, düşük pH'larda ve safra tuzlarının varlığında, gastrointestinal sistemde olumlu etkilerini göstermek için canlılığını devam ettirebilmelidir [94]. Düşük pH ve safra tuzu toleransı bir suşun gastrointestinal şartlarda canlı kalması hakkında bilgi vermektedir [105]. Genel olarak mide suyunun asitlik değeri pH 3 olarak kabul edilmektedir ve pH 2 ekstrem mide koşulları için kullanılmaktadır [106].

pH 3,0 ve safra tuzu varlığında *S. boulardii* suşlarının gelişimi etkilenmemiştir ancak S2, S4 ve S6 suşları diğerlerine kıyasla daha az gelişim göstermiştir (Şekil 3.9). Bu pH değerinin *S. boulardii* suşlarının canlılığını devam ettirebilmesi için eşik bir değer olduğu öne sürülmüştür çünkü pH 3,0'dan daha düşük pH değerlerinde canlılığın önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir [56]. Önceki bulguya benzer şekilde, çalışmamızda pH 2,0 ve 1,5'te *S. boulardii* suşlarında gelişme gözlemlenmemiştir, bu durum *S. boulardii* suşları için düşük pH koşullarında canlılığı devam ettirmek için bir korumanın gerekli olabileceğini önermektedir. Ancak *S. boulardii* suşları pH 2,5'te farklı karakteristik özellik göstermiş olup bu pH değerinde S2 ve S10 suşlarının gelişebildiği belirlenmiştir. Bu iki suşun pH 2,5 gibi çok düşük koşullarda canlılık göstermeleri probiyotik bir mikroorganizma için ayırt edici önemli bir özelliktir.



Şekil 3.9 *S. boulardii* suşlarının düşük pH ve safra tuzlarına toleransı



Şekil 3.9 *S. boulardii* suşlarının düşük pH ve safra tuzlarına toleransı (devamı)

3.2.4 Gastrointestinal Koşullara Direnç Sonuçları

Asidik mide koşulları, bazik ince bağırsak şartları, lizozim ve safra tuzlarına direnç gibi gastrointestinal sistemde probiyotiklerin canlılığını devam ettirmesi önemli bir ön koşuldur [93]. Bundan dolayı *S. boulardii* suşlarının gastrik ve pankreatik ortamdaki canlılıkları belirlenmiştir (Tablo 3.1). Genel olarak tüm suşlar gastrik koşullarda %95,6'dan daha fazla canlılık yüzdesine sahiptir. Ancak bu oran pankreatik koşullarda %88,5'e düşmüştür. Genel canlılık yüzdesinde ise S6 suşu %86.1 ile en düşük canlılığa sahipken S10 suşu %96,2 ile en fazla canlılık yüzdesine sahip olan suş olarak ön plana çıkmıştır. Test edilen 11 *S. boulardii* suşundan 9 tanesi %90'ın üzerinde genel canlılık yüzdesi göstermiştir. Ve bu durum bir mikroorganizmanın probiyotik olarak değerlendirilmesi açısından arzu edilen önemli bir karakteristik özelliiktir. Gastrointestinal koşullarda canlılık yüzdelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($P \leq 0,05$).

Rajkowska ve Styczynska [107] tarafından beş farklı *S. boulardii* suşunun gastrointestinal koşullara yüksek oranda adapte olduğunu ancak inkübasyon süresinin artmasının adaptasyon yüzdesinde azalma ile sonuçlandığı bildirilmiştir. Kontrol suşu olarak kullanılan iki *S. boulardii* suşunun gastrointestinal koşullarda canlılığını devam ettirebildiği belirtilmiştir [108]. Gut vd. [93] kontrol olarak kullanılan *S. boulardii* suşlarının gastrointestinal koşullarda en az etkilenen suşlar olduğunu bildirmiştir. Genel olarak, bulgularımız *S. boulardii* suşlarının mide ve pankreatik koşullar altında yüksek canlılık düzeylerini gösteren literatür verileriyle uyumlu bulunmuştur.

Tablo 3.1 *S. boulardii* suşlarının gastrointestinal koşullardaki canlılığı

<i>S. boulardii</i> suşları	Simüle edilmiş sindirim (%)		
	GC ¹	PC	GC ²
S1	98,3±0,0 ^{d,e}	97,7±0,3 ^a	95,8±0,0 ^a
S2	99,3±0,0 ^{a,b}	96,2±0,9 ^b	95,5±1,0 ^{a,b}
S3	99,2±0,3 ^{a,b,c}	96,9±1,3 ^{a,b}	94,8±0,3 ^{a,b,c}
S4	98,8±0,4 ^{a,b,c,d}	88,5±0,6 ^d	87,4±0,2 ^d
S5	97,5±0,9 ^e	95,9±0,4 ^b	93,5±0,6 ^c
S6	95,6±0,2 ^f	89,8±0,3 ^d	86,1±0,1 ^d
S7	98,4±0,0 ^{b,c,d}	97,2±0,4 ^{a,b}	95,7±0,4 ^a
S8	99,6±0,2 ^a	96,5±0,3 ^{a,b}	95,4±0,8 ^{a,b}
S9	98,7±0,3 ^{a,b,c,d}	94,1±0,5 ^c	93,8±1,9 ^{b,c}
S10	99,1±0,7 ^{a,b,c,d}	97,8±0,2 ^a	96,2±0,0 ^a
S11	98,4±0,1 ^{c,d,e}	97,6±0,4 ^a	95,6±0,9 ^{a,b}

GC¹: Gastrik canlılık, PC: Pankreatik canlılık, GC²: Genel canlılık. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklıdır (P≤0,05).

3.2.5 Suşların Antibiyotik Dirençleri

Streptomisin, tetrasiklin, eirtromisin, kloramfenikol, penisilin ve ampisilin antibiyotik direncin belirlenmesi amacıyla yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerdir [109]. *S. boulardii*, antibakteriyel antibiyotiklere karşı dirençlidir ancak çoğu probiyotik bakteri antibiyotiklere duyarlıdır veya bunları tolere edemez [94, 110]. Bununla birlikte *S. boulardii*, nistatin gibi antifungal ajanlara karşı duyarlı olup sindirim sisteminden uzaklaştırılmaktadır [111]. Antibiyotikle ilişkili diyare (AİD), normal bağırsak mikrobiyotasının bozulması ve patojenik bakteri

kolonizasyonunun neden olduğu antibiyotiklerle tedavinin yaygın bir komplikasyonudur [110]. *S. aureus*, *C. perfringens*, *K. oxytoca*, *Candida* spp., *E. coli* ve *Salmonella* spp. AİD'ye neden olsa da, genellikle fırsatçı bir patojen olan *C. difficile* neden olmaktadır [112-115]. *S. boulardii*'nin hem yetişkinler hem de çocuklarda görülen AİD üzerindeki etkisi kanıtlanmış ve bu amaç doğrultusunda kullanılmaktadır [116, 117].

Elde edilen sonuçlara göre *S. boulardii* suşları test edilen tüm antibakteriyel antibiyotiklere karşı dirençli bulunmuştur (Tablo 3.2). Elde edilen bu sonuçlar bakteriyel enfeksiyonların tedavisi sırasında *S. boulardii*'nin antibakteriyel antibiyotikler tarafından etkilenmeyeceğini göstermiştir. Ancak, Tablo 3.3 belirtildiği gibi antifungal antibiyotiklere karşı ise duyarlı bulunmuştur. Ketokonazol *S. boulardii*'ye karşı en fazla etki gösteren antibiyotik olmuşken, Amfoterisin B ise en az etki gösteren antibiyotik olmuştur ($P \leq 0,05$). Bununla birlikte suşların göstermiş olduğu dirençlerde farklılık arz etmektedir.

Test edilen on bir suşun tümünün neomisin dışında tüm antibakteriyel antibiyotiklere ve flukonazol, itrakonazol ve ketokonazol olmak üzere antifungal antibiyotiklerin çoğuna dirençli olduğu ancak suşların amfoterisin B ve nistatin'e karşı değişken davranış gösterdiği belirtilmiştir [118]. Amorim vd. [94] bazı mayaların ve bir *S. boulardii* 'nin tüm antibakteriyel antibiyotiklere dirençli olduğunu bildirmiştir.

Tablo 3.2 *S. boulardii* suşlarının antibakteriyel antibiyotiklere direnci

<i>S. boulardii</i> suşları	Test edilen antibakteriyel diskler										
	AM	C	CIP	DO	E	CN	K	T	P	S	TE
S1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Dirençli, AM: Ampisilin, C: Kloramfenikol, CIP: Ciprofloksin, DO: Doksilin, E: Eritromisin, CN: Gentamisin, K: Kanamisin, T: Oxytetrasilin, P: Penisilin, S: Streptomisin, TE: Tetracilin

Tablo 3.3 *S. boulardii* suşlarının antifungal antibiyotiklere direnci

<i>S. boulardii</i> suşları	Test edilen antifungal diskler				
	AMB	CLT	FLU	KTC	NY
S1	7,2±0,4 ^{c,d}	17,0±0,7 ^{a,b,c}	22,8±1,1 ^a	26,8±0,4 ^b	18,0±0,0 ^a
S2	7,5±0,0 ^{b,c,d}	16,8±0,4 ^{b,c}	21,8±0,4 ^a	26,0±0,0 ^{b,c,d}	17,0±0,0 ^b
S3	7,8±0,4 ^{a,b,c,d}	18,3±0,4 ^a	23,0±0,7 ^a	29,0±0,7 ^a	15,3±0,4 ^{d,e,f}
S4	8,3±0,4 ^{a,b}	16,3±0,4 ^{b,c}	16,0±1,4 ^{e,f}	25,0±0,0 ^{d,e}	16,5±0,7 ^{b,c}
S5	7,8±0,4 ^{a,b,c,d}	16,0±0,7 ^c	18,0±0,0 ^{c,d}	25,3±1,1 ^{c,d,e}	13,0±0,0 ^g
S6	8,3±0,4 ^{a,b}	14,3±0,4 ^d	15,3±0,4 ^f	25,0±0,7 ^{d,e}	15,3±0,4 ^{d,e,f}
S7	8,0±0,0 ^{a,b,c}	17,5±0,7 ^{a,b}	19,8±0,4 ^b	25,3±0,4 ^{c,d,e}	14,5±0,7 ^f
S8	8,0±0,0 ^{a,b,c}	16,0±1,4 ^c	16,5±0,7 ^{d,e,f}	26,8±0,4 ^b	17,0±0,0 ^b
S9	8,5±0,7 ^a	17,5±0,7 ^{a,b}	22,5±0,7 ^a	26,3±0,4 ^{b,c}	16,0±0,0 ^{c,d}
S10	7,5±0,7 ^{b,c,d}	16,5±0,0 ^{b,c}	17,0±0,7 ^{d,e}	24,5±0,0 ^e	15,0±0,0 ^{e,f}
S11	7,0±0,0 ^d	17,5±0,7 ^{a,b}	18,8±0,4 ^{b,c}	26,0±0,7 ^{b,c,d}	15,8±0,4 ^{c,d,e}

AMB: Amfoterisin B, CLT: Klotrimazol, FLU: Flukonazol, KTC: Ketokonazol, NY: Nistatin

Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklıdır (P≤0,05).

3.2.6 Suşların Antifungal Aktivitesi

S. boulardii suşlarının antifungal aktivitesi, *A. flavus*, *A. niger*, *P. expansum*, *F. oxysporum* ve *A. alternata*'ya karşı test edilmiştir. *S. boulardii* suşları, test edilen küflere karşı farklı antifungal aktiviteleri Tablo 3.5'de gösterilmiş olup farklı aktiviteler göstermişlerdir. *A. alternata* üzerinde en fazla inhibe edici özellik gösteren suşlar %41,94 ile S2, S7 ve S11 suşları olmuştur. *A. flavus* üzerinde en fazla inhibe edici etkiyi %60,78 ile S8 suşu göstermiştir. %67,82 ile S5 suşu *A. niger*'i en fazla inhibe eden suş olarak belirlenmiştir. *F. oxysporum* %60,00 ile S10 suşu

tarafından inhibe edilmiştir. *P. expansum* ise S2, S8 ve S10 suşları tarafından %46,15 ile en fazla inhibe eden suşlar olmuştur. Genel olarak, S2, S8 ve S10 suşları küflerin inhibisyonunda ön plana çıkan suşlar olarak tespit edilmiştir.

S. boulardii suşlarının *Candida* spp.'ye karşı etkili probiyotikler olduğu bilinmektedir [119]. Ancak gıdalar ile ilişkili zararlı küflere karşı antifungal aktivitelerin incelendiği yeterli düzeyde çalışma mevcut değildir. Bulgularımız, test edilen *S. boulardii* suşlarının güçlü antifungal aktivite gösterebileceğini ve *S. boulardii* suşlarının bu özelliklerinin gıda ortamlarında istenmeyen fungusların gelişiminin engellemesini veya istenmeyen metabolitlerin oluşumunu kontrol etmek için kullanılabileceğini göstermiştir.

Tablo 3.4 *S. boulardii* suşlarının antifungal aktiviteleri

<i>S. boulardii</i> suşları	Küfler				
	<i>A. alternata</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. niger</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>P. expansum</i>
S1	38,71±4,56 ^{a,b}	54,90±2,77 ^{c,d}	52,50±3,54 ^b	50,00±0,00 ^{c,d}	26,92±5,44 ^{c,d}
S2	41,94±0,00 ^{a,b}	52,94±0,00 ^{d,e}	49,43±0,00 ^{b,c}	52,50±3,54 ^{b,c}	46,15±0,00 ^a
S3	35,48±0,00 ^{b,c}	56,86±0,00 ^{b,c}	52,50±3,54 ^b	45,00±0,00 ^{e,f}	34,62±5,44 ^{a,b,c}
S4	38,71±4,56 ^{a,b}	52,94±0,00 ^{d,e}	40,00±0,00 ^d	51,25±1,77 ^c	15,38±10,88 ^d
S5	25,81±13,69 ^c	52,94±0,00 ^{d,e}	67,82±0,00 ^a	58,75±1,77 ^a	42,31±5,44 ^{a,b}
S6	32,26±4,56 ^{b,c}	50,98±2,77 ^{e,f}	47,50±3,54 ^c	42,17±0,00 ^f	42,31±5,44 ^{a,b}
S7	41,94±9,12 ^{a,b}	49,02±0,00 ^f	31,03±0,00 ^e	46,99±0,00 ^{d,e}	30,77±10,88 ^{b,c}
S8	48,39±0,00 ^a	60,78±0,00 ^a	35,63±0,00 ^{d,e}	56,25±1,77 ^{a,b}	46,15±0,00 ^a
S9	38,71±4,56 ^{a,b}	58,82±2,77 ^{a,b}	50,00±0,00 ^{b,c}	50,00±0,00 ^{c,d}	38,46±0,00 ^{a,b,c}
S10	35,48±0,00 ^{b,c}	56,86±0,00 ^{b,c}	47,50±3,54 ^c	60,00±0,00 ^a	46,15±0,00 ^a
S11	41,94±0,00 ^{a,b}	50,98±2,77 ^{e,f}	40,00±0,00 ^d	57,50±3,54 ^a	34,62±5,44 ^{a,b,c}

Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklıdır (P≤0,05).

3.2.7 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

S. boulardii' farklı yollar ile antibakteriyel aktivite gösterebilmektedir. Bunlardan bir tanesi bakterilerin maya hücre yüzeylerine kalıcı olarak bağlanmasıdır [33]. İkinci olarak göstermiş olduğu proteolitik aktivite ve sterik engellemesi sayesinde *C. difficile* 'nin hücrelere yapışmasını engellemesidir [120]. Diğer mekanizmalar ise ortamdaki substratların kullanılması, çevrenin değiştirilmesi ve çeşitli bileşiklerin salgılanmasıdır [27]. *S. boulardii* tarafından salgılanan bu bileşikler arasında

glikoproteinler, proteinler, poliaminler, proteaz serin enzimi, alkalın fosfomono esterleri ve kısa zincirli yağ asitleri yer almaktadır [121-124].

Önceki çalışmalar *S. boulardii* suşlarının *S. aureus*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *C. perfringens*, *Salmonella* spp. ve *Candida albicans* gibi patojenleri inhibe ettiğini göstermektedir [119]. Bundan dolayı *S. boulardii* metabolik ekstraktlarının *E. coli*, *B. cereus*, *S. Typhimurium*, *Y. enterocolitica* ve *S. aureus* 'a karşı antibakteriyel aktivitesi üç farklı konsantrasyonda test edilmiştir (Tablo 3.4). *S. boulardii* suşlarının antibakteriyel aktivitesinin konsantrasyona bağlı olduğu ve *S. Typhimurium* hariç diğer patojenlere karşı 1:5 konsantrasyonda antibakteriyel aktivitenin olmadığı belirlenmiştir. Farklı suşlar farklı patojenlere karşı yüksek düzeyde antibakteriyel aktivite göstermiş olup *B. cereus*, *Y. enterocolitica* ve *S. aureus* 'a karşı en etkili suş S11 olmuştur. Buna karşın, *E. coli* ve *S. Typhimurium*'a karşı en etkili suşlar ise sırasıyla S1 ve S2 suşları olmuştur.

S. boulardii'nin metabolik ekstraktı *E. coli*'ye kıyasla *Enterobacter* spp.'ye karşı daha yüksek inhibisyon etkisi göstermiştir [125]. Naimah vd. [58] test edilen patojenler arasında en yüksek inhibisyon etkisinin *B. cereus* 'a karşı olduğunu ve konsantrasyonun azalmasıyla etkinin azaldığını bildirmişlerdir. *S. boulardii*'yi referans suş olarak kullanmışlardır ve test edilen *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *S. aureus* 'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermediğini belirtmişlerdir [95]. Rajkowska vd. [55] yaptıkları çalışmada, *S. boulardii*'nin *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* hücre sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde azalmaya neden olduğunu ve *L. monocytogenes* ve *P. aeruginosa*'nın gelişme hızlarını yavaşlattığını belirtmişlerdir.

Tablo 3.5 *S. boulardii* suşlarının patojenik bakterilere karşı antibakteriyel aktivitelerinin inhibisyon zonları (mm)

Bakteriler	Kons.	<i>S. boulardii</i> suşları										
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
<i>E.coli</i>	1	29,0±0,0	23,5±0,7	23,0±0,0	25,0±1,4	23,0±1,4	22,0±1,4	25,0±0,0	25,0±1,4	22,0±0,0	28,0±0,0	26,5±0,7
	2	23,5±0,7	20,0±0,0	-	20,5±0,7	18,5±0,7	19,5±0,7	20,5±0,7	18,5±0,7	18,0±1,4	23,5±0,7	22,5±0,7
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	31,0±0,0	31,5±0,7	24,5±0,7	28,0±0,0	28,5±0,7	27,0±0,0	27,5±0,7	26,5±2,0	25,5±0,7	30,0±0,0	31,0±0,0
	2	25,0±0,0	25,0±1,4	-	25,0±0,0	25,0±0,0	24,0±0,0	24,0±1,4	24,5±0,7	22,5±0,7	23,0±0,0	26,0±0,0
	5	-	19,5±0,7	-	20,5±0,7	20,5±0,7	19,0±0,0	19,5±0,7	20,0±0,7	-	-	-
	1	23,0±1,4	23,0±0,0	24,5±0,7	24,5±0,7	24,0±0,0	24,0±1,4	25,0±0,0	22,5±0,7	22,0±1,4	27,0±0,0	29,5±0,7
	2	20,5±0,7	20,0±0,0	-	21,5±0,7	20,0±1,4	21,0±1,4	21,0±1,4	19,5±0,7	18,5±0,7	23,0±0,0	24,5±0,7
	5	-	-	-	-	-	-	-±	-	-	-	-
<i>S. Typhimurium</i>	1	27,5±0,7	24,5±0,7	24,5±0,7	23,5±0,7	23,5±0,7	23,5±0,7	21,5±2,0	22,0±0,0	22,0±0,0	27,5±0,7	28,5±0,7
	2	24,0±0,0	19,0±0,0	19,5±0,7	20,5±0,7	21,0±0,0	19,5±0,7	18,0±0,0	19,0±1,4	18,5±0,7	24,5±0,7	24,0±0,0
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. enterocolitica</i>	1	26,0±0,0	-	24,5±0,7	26,5±0,7	23,5±2,1	26,0±0,0	26,5±0,7	26,0±0,0	24,5±0,7	-	28,0±0,0
	2	24,0±0,0	-	-	23,0±0,0	-	21,5±0,7	23,5±0,7	21,0±1,4	21,5±0,7	-	24,0±1,4
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. cereus</i>	1	26,0±0,0	-	24,5±0,7	26,5±0,7	23,5±2,1	26,0±0,0	26,5±0,7	26,0±0,0	24,5±0,7	-	28,0±0,0
	2	24,0±0,0	-	-	23,0±0,0	-	21,5±0,7	23,5±0,7	21,0±1,4	21,5±0,7	-	24,0±1,4
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	1	26,0±0,0	-	24,5±0,7	26,5±0,7	23,5±2,1	26,0±0,0	26,5±0,7	26,0±0,0	24,5±0,7	-	28,0±0,0
	2	24,0±0,0	-	-	23,0±0,0	-	21,5±0,7	23,5±0,7	21,0±1,4	21,5±0,7	-	24,0±1,4
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: İnhibisyon yok

3.3 En İyi Probiyotik Özellik Gösteren Suşun Belirlenmesi

Ticari ürünlerden izole edilen *S. boulardii* suşlarının oto-agregasyon, hidrofobisite, antifungal ve antimikrobiyal özellikleri, düşük pH ve safraya direnç, gastrointestinal koşullara direnç, antibiyotiklere direnç olmak üzere yedi farklı probiyotik özelliği belirlenmiştir.

Tüm *S. boulardii* suşları için en yüksek oto-agregasyon yüzdesine 24. saat diliminde ulaşılmıştır. S10 suşu 2. ve 24. saat diliminde, S2 suşu ise 4. saat diliminde en yüksek oto-agregasyon yüzdesine sahip olan suşlar olarak belirlenmiştir. Sırasıyla, 2. saat diliminde oto-agregasyon yüzdesi en yüksek olan üç suş, S10, S2 ve S5, 4. saat diliminde S2, S10 ve S3, 24. saat diliminde ise S10, S8 ve S4 olmuştur. Genel olarak S10 ve S2 yüzde oto-agregasyon oranında ön plana çıkan suşlar olmuştur.

S. boulardii suşlarının hidrofobisiteleri dört farklı hidrokarbon, hekzan, dietileter, ksilen ve *n*-hekzadekan, üzerinde yapılmıştır. Tüm hidrokarbonlar için en yüksek hidrofobisite değeri, *n*-hekzadekan, %30,57 ile S9'dan izole edilen *S. boulardii* suşunda, en düşük hidrofobisite değeri, ksilen, %0,99 ile S6'dan izole edilen *S. boulardii* suşunda elde edilmiştir. Tüm suşlar için en düşük hidrofobisite değeri ksilen üzerinde görülürken, en yüksek hidrofobisite değerleri ise değişiklik göstermektedir.

S. boulardii suşlarının *A. flavus*, *A. niger*, *P. expansum*, *F. oxysporum* ve *A. alternata* üzerindeki antifungal etkisi incelenmiştir. İnkübasyon sonunda *A. flavus* ve *A. niger* üzerinde en fazla etkili olan S9 (sırasıyla %60,78 ve 54,02), *P. expansum* ve *F. oxysporum* üzerinde S10 (sırasıyla %46,15, 60,00), *A. alternata* üzerinde etkili olan ise S8 (%48,39) suşu olmuştur.

S. boulardii suşlarının düşük asidik koşullardaki (pH 3, 2,5, 2 ve 1,5) gelişimleri incelenmiştir. Tüm *S. boulardii* suşları pH 3'te kontrol grubuna göre daha iyi bir gelişim göstermiştir ve bu probiyotik bir mikroorganizma için arzu edilen bir durumdur. Ayrıca pH 2,5 gibi daha düşük asidik koşullarda ise gelişimini devam ettirebilen suşlar bulunmuştur. S10, S2 ve S5 pH 2,5'da en fazla gelişim gösterebilen en iyi suşlar olarak ön plana çıkmıştır (sırasıyla 0,7815, 0,442 ve 0,1585). pH 2 ve

pH 1,5 gibi çok düşük koşullarda ise tüm suşlarda herhangi bir gelişim olmamış, sadece kontrol grubuyla benzer şekilde absorbans değerleri ölçülmüştür.

Üç farklı konsantrasyondaki *S. boulardii* suşlarının metabolik ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi *E. coli*, *B. cereus*, *S. Typhimurium*, *Y. enterocolitica* ve *S. aureus* 'a karşı test edilmiştir. S2 ve S10 hariç, diğer *S. boulardii* suşlarının *S. aureus* üzerinde antibakteriyel aktivitesinin olduğu belirlenmiştir ve genel olarak en yüksek inhibisyon çapı, tüm *S. boulardii* suşları için *S. Typhimurium* 'a karşı ölçülmüştür. Konsantrasyonun azalması ile *S. boulardii* suşlarının antibakteriyel aktivitelerinde azalma görülmüştür ve 1:5 (g/mL) konsantrasyon için sadece *S. Typhimurium* üzerinde antibakteriyel aktivite gözlemlenmiştir. *B. cereus*, *Y. enterocolitica* ve *S. aureus*'a karşı en yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip *S. boulardii* suşu S11 olurken, *E. coli* ve *S. Typhimurium*'a karşı en yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip *S. boulardii* suşları S1 ve S2 olmuştur.

S. boulardii suşları test edilen tüm antibakteriyel antibiyotiklere karşı dirençli olmasına rağmen, antifungal antibiyotiklere karşı ise duyarlı bulunmuştur. Nystatin, *S. boulardii* suşlarına karşı anti-fungisidal etki gösterirken amphotericin B, clotrimazole, fluconazole ve ketoconazole fungistatik etki göstermiştir. Tüm suşlar en fazla duyarlılığa ketoconazole karşı sahipken en fazla direnç ise amphotericin B'ye karşı sahiptir. Amphotericin B'ye karşı S11, clotrimazole ve fluconazole karşı S6, ketoconazole karşı S10 ve nystatin'e karşı S5 en fazla direnç gösteren suşlar olarak bulunmuştur.

S. boulardii suşlarının gastrik, pankreatik sindirim ve genel canlılık yüzdeleri belirlenmiştir. Gastrik sindirim için tüm suşlar %95'ten fazla canlılık göstermiştir ve en yüksek ve en düşük yüzdeleri S2 (%99,3) ve S6 (%95,6) göstermiştir. Pankreatik sindirim için en yüksek ve en düşük canlılık yüzdeleri %97,8-88,5 ile S10 ve S4 suşları için tespit edilmiştir. Tüm suşlar da gastrik koşullara göre pankreatik koşullarda bir düşüş belirlenmiştir. Bununla birlikte S10 (%96,2) en fazla genel canlılık yüzdesine sahipken S6 (%86,1) ise en düşük genel canlılık yüzdesine sahip olan suşlar olarak bulunmuştur. Test edilen 11 farklı *S. boulardii* suşundan 9 tanesi %90 üzerinde genel canlılığa sahiptir ve bu durum bir mikroorganizmanın probiyotik olarak değerlendirilmesinde arzu edilen karakteristik bir özelliktir.

Bu süreçte belirlenen probiyotik özellikler arasından özellikle düşük pH ve gastrointestinal koşullara en fazla direnç gösteren suş olarak S10 bulunmuştur. Sonraki süreçte yapılacak olan probiyotik dondurma üretiminde S10 suşunun tercih edilmesi uygun bulunmuştur.

3.4 Probiyotik Dondurma Örneklerinin Özellikleri

3.4.1 Probiyotik Dondurma Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri

Probiyotik dondurma örneklerinin kuru madde oranları Tablo 3.6'da gösterilmiştir. Genel olarak probiyotik ilavesinin dondurma kuru maddesini arttırdığı belirlenmiş olsa da yapılan istatistiksel analiz sonucuna göre bu farklılık anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$). Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliğinde yarım yağlı dondurma örneklerinin kuru madde oranının ağırlıkça minimum %31 düzeyinde olması gerektiği belirtilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler göre üretilen probiyotik dondurma örneklerinin kuru madde oranları (%) tebliğde belirtilen oranlar ile uygunluk göstermektedir. Pandiyan vd. [61] *S. boulardii* içeren dondurma örneklerinin toplam % kuru madde oranlarının kontrol örneğiyle benzer olduğunu belirtmişlerdir ve bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Buna karşın, Sarwar vd. [126] yaptıkları çalışmada *S. boulardii* ilave edilen dondurma örneklerinin toplam kuru madde değerlerini kontrole kıyasla anlamlı bulmuştur ($P\leq 0,01$). Ancak bu durumun nedeninin probiyotik ilavesinden sonra dondurma örneklerinin 6 saatlik fermentasyona tabi tutulmasının olduğu düşünülmektedir.

Probiyotik dondurma örneklerinin laktik asit cinsinden titrasyon asitliği değerleri belirlenmiş olup Tablo 3.6'da yer almaktadır ve %0,18 ile 0,36 arasında değişmiştir (Kontrol, D3). Kontrol örneğine kıyasla probiyotik ilavesinin dondurma asitliğini arttırdığı belirlenmiştir ve bu sonuçlar D1 örneği hariç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P\leq 0,05$). *S. boulardii* ile birlikte *L. rhamnosus* 'un ilave edildiği dondurma örneklerinin titrasyon asitlik yüzdesi en fazla bulunmuştur. Dinlendirme öncesi ve sonrası probiyotik ilavesinde iki probiyotik mikroorganizmanın birlikte ilave edildiği dondurma örnekleri ayrı ilave edilen örneklere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Abghari vd. [127] dinlendirme öncesi ve dinlendirme sonrası *L. rhamnosus* ilave edilen dondurma örneklerinin titrasyon asitliğinin

kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmişlerdir ve elde edilen sonuçlar bu çalışmayla benzerlik göstermektedir.

Probiyotik dondurma örneklerinin pH değerleri dondurma üretimini takiben 1. günden başlayarak haftalık periyotlarla takip edilmiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmadığı için sadece 1. gün ve 30. gündeki pH değerleri verilmiştir. Dondurma örneklerine probiyotik ilavesi neticesinde daha düşük pH değerleri ölçülmüştür ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P \leq 0,05$). En düşük pH değerleri *S. boulardii* ile *L. rhamnosus* 'un birlikte ilave edildiği D3 ve D6 örneklerinde ölçülmüştür. Ayrıca dinlendirme öncesi ve sonrası probiyotik ilave edilen dondurma örneklerinin pH değişimleri de anlamlı bulunmuştur ($P \leq 0,05$). Niamah vd. [128] yaptıkları çalışmada *S. boulardii* içeren dondurma örneklerinin pH değerlerinin 4,7 olduğunu belirtmişlerdir. Abghari vd. [127] dinlendirme öncesi ve dinlendirme sonrası *L. rhamnosus* ilave edilen dondurma örneklerinin pH değerlerinin kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmişlerdir ve elde edilen sonuçlar bizim bulduğumuz sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Benzer şekilde Alemprese vd. [129] yaptıkları çalışmada *L. rhamnosus* ilavesinin dondurma örneklerinin pH değerlerini düşürücü etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. pH değerindeki bu düşüşün nedeni *S. boulardii*'nin dondurma miksindeki şekerleri fermente etme yeteneğine sahip olmasıdır. *S. boulardii* ya asit hidrolizi yoluyla ya da üretmiş olduğu enzimler yardımıyla sükrozu glikoz ve früktoz birimlerine parçalamaktadır ve glikozu früktoz ve sükroza oranla daha hızlı ve kolay kullanabilmektedir [84]. *S. boulardii* karbonhidratları kullanarak asetat üretebilmektedir [130].

Probiyotik dondurma örneklerinin protein değerleri Tablo 3.6'da gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre protein oranları %3,14 ile %3,49 arasında değişmiş olup bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0,05$). Probiyotik dondurma örneklerinin yağ oranı %3,03 ile 3,19 arasında değişmiş olup bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0,05$). Bizim çalışmamıza benzer bir şekilde, Pandiyan vd. [61] *S. boulardii* ilavesinin dondurma örneklerinin protein ve yağ değerleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Sarwar vd. [126] ise yaptıkları çalışmada *S. boulardii* ilave edilen dondurma örneklerinin

protein ve yağ değerlerini kontrole kıyasla anlamlı bulmuştur. Ancak bu durum dondurma örneklerinin fermentasyona tabi tutulmasından kaynaklabileceği düşünölmektedir.

Probiyotik dondurma örneklerinin hacim artışları Tablo 3.6'da yer almaktadır. Elde edilen verilere göre hacim artışının en fazla ve en az olduğu örnekler dinlendirme sonrası *L. rhamnosus* ve *S. boulardii* ile *L. rhamnosus* 'un birlikte ilave edildiği D5 ve D6 örnekleri olmuştur. Kontrol örneği ile D5 örneği istatistiksel olarak aynı olmasına rağmen diğer örnekler istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P \leq 0,05$). Benzer şekilde Sarwar vd. [126] yaptıkları çalışma *S. boulardii* ilavesinin örneklerin hacim artışı üzerinde anlamlı etkisinin olduğunu göstermiştir. Genel olarak probiyotik ilavesi daha düşük hacim artışıyla sonuçlanmıştır. *L. rhamnosus*'un hem dinlendirme öncesi hem de dinlendirme sonrası ilavesinde hacim artışına olumlu etkisinin olduğu, buna karşın *S. boulardii* ilavesinin hacim artışı üzerinde olumsuz etkisinin olduğu belirlenmiştir. Abghari vd. ve Alemprese vd. [127, 129] *L. rhamnosus* ilavesinin hacim artışı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise dinlendirme sonrası *L. rhamnosus* ilavesinin hacim artışı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı buna karşın dinlendirme öncesi ilavesinin ise hacim artışı üzerinde önemli bir etkiye sebep olduğu görölmektedir.

Tablo 3.6 Probiyotik dondurma örneklerinin fizikokimyasal özellikleri

Örnekler	Kuru madde	Titrasyon asitliği	pH 1. Gün	pH 30. Gün	Protein	Yağ	Overrun
D1	32,27 ± 6,42 ^a	0,22 ± 0,06 ^{b,c}	6,31 0,02 ^c A	6,25 0,00 ^c A	3,14 ± 0,31 ^a	3,11 ± 0,05 ^a	25,82 ± 0,84 ^c
D2	30,71 ± 0,12 ^a	0,26 ± 0,00 ^b	6,23 0,01 ^d A	6,19 0,01 ^d A	3,24 ± 0,31 ^a	3,03 ± 0,08 ^a	28,39 ± 0,41 ^b
D3	33,15 ± 1,94 ^a	0,36 ± 0,02 ^a	5,51 0,01 ^f A	5,49 0,02 ^f A	3,21 ± 0,09 ^a	3,16 ± 0,05 ^a	23,57 ± 0,75 ^d
D4	32,72 ± 2,82 ^a	0,25 ± 0,01 ^b	6,54 0,00 ^b A	6,51 0,02 ^b A	3,23 ± 0,29 ^a	3,11 ± 0,11 ^a	21,74 ± 0,64 ^e
D5	30,69 ± 0,51 ^a	0,25 ± 0,02 ^b	6,26 0,01 ^d A	6,27 0,01 ^c A	3,49 ± 0,37 ^a	3,14 ± 0,08 ^a	31,09 ± 0,29 ^a
D6	33,51 ± 0,94 ^a	0,35 ± 0,00 ^a	5,84 0,03 ^e A	5,81 0,01 ^e A	3,49 ± 0,49 ^a	3,11 ± 0,05 ^a	21,17 ± 0,30 ^e
Kontrol	30,60 ± 0,12 ^a	0,18 ± 0,00 ^c	6,67 0,02 ^a A	6,66 0,00 ^a A	3,14 ± 0,05 ^a	3,19 ± 0,16 ^a	30,81 ± 1,18 ^a

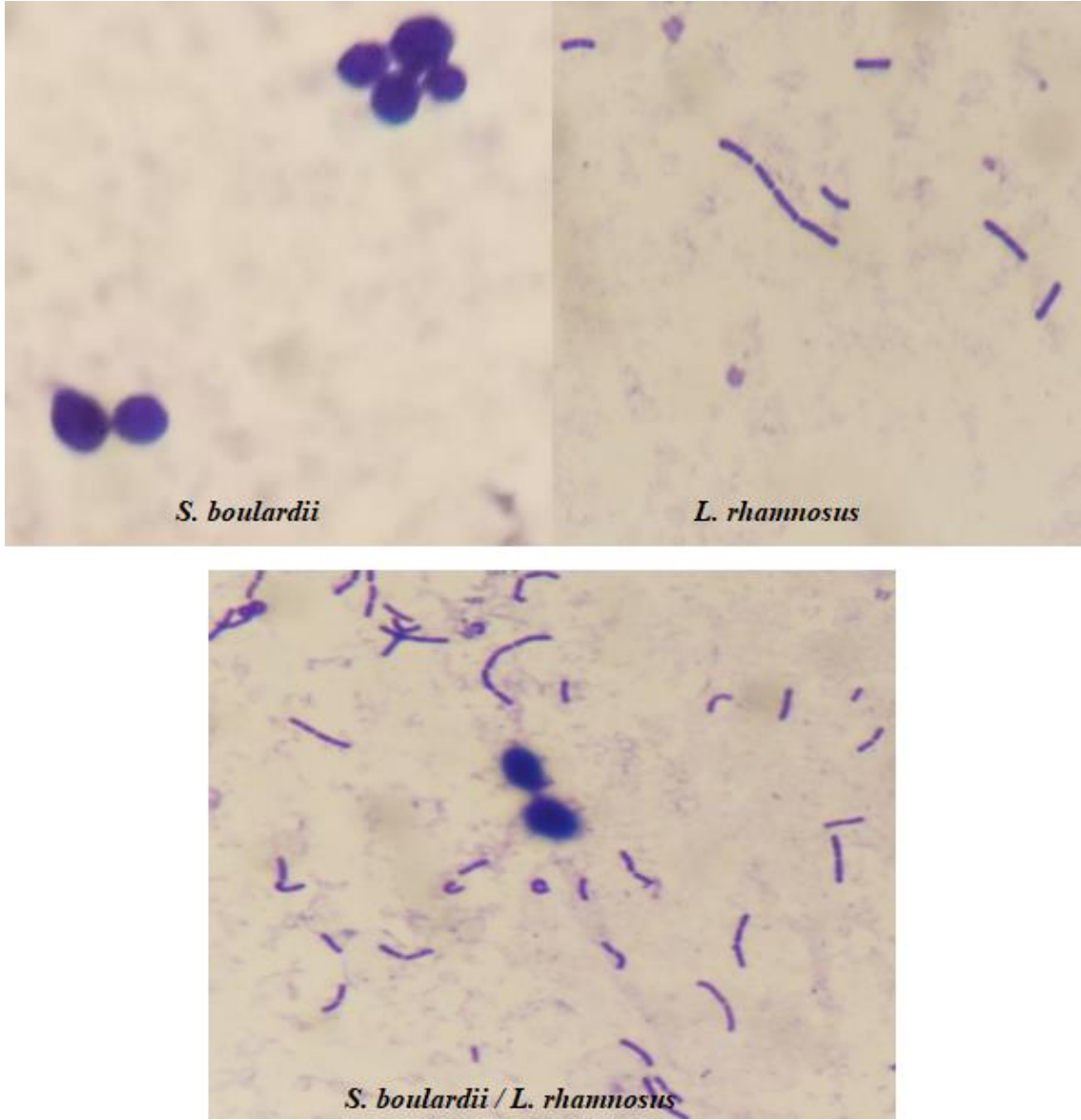
Üstsel olarak gösterilen farklı harfler bir sütun içindeki istatistiksel farkı gösterir (P≤0,05). Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel farkı gösterir (P≤0,05). D1: *S. boulardii* dinlendirme öncesi inokülasyon (d.ö.i), D2: *L. rhamnosus* (d.ö.i), D3: *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* (d.ö.i), D4: *S. boulardii* dinlendirme sonrası inokülasyon (d.s.i), D5: *L. rhamnosus* (d.s.i), D6: *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* (d.s.i).

3.4.2 Dondurma Örneklerinde Probiyotik Canlılık

Probiyotik olduğu düşünülen bir üründe tüketim esnasında canlı probiyotik mikroorganizma konsantrasyonu (genellikle 10^6 kob/g ya da mL) yeterli düzeyde olmalıdır ve canlı mikroorganizma sayısı raf ömrü boyunca korunmalıdır, eğer canlı mikroorganizma sayısı arzu edilen düzeyde olmaz ise probiyotiklerin potansiyel sağlık faydaları tüketiciye sunulamayacaktır [131, 132]. Dondurma örneklerine probiyotik *S. boulardii* ile *L. rhamnosus* dinlendirme öncesi ve dinlendirme sonrası olmak üzere iki farklı aşamada ayrı ayrı ve birlikte inoküle edilmiştir (Şekil 3.10). Dondurma örneklerindeki canlı probiyotik sayımına 4 gün aralıklar ile devam edilmiştir. Başlangıç inokülasyon konsantrasyonu *S. boulardii* için yaklaşık $7 \log$ kob/g ve *L. rhamnosus* için ise yaklaşık $9 \log$ kob/g düzeyinde gerçekleşmiştir (Tablo 3.7). Probiyotik inokülasyonu yapılan dondurma mikslerinden dinlendirme periyodu boyunca sadece *S. boulardii* inoküle edilen D1 örneğindeki canlı sayısında artış olmasına rağmen diğer örneklerde böyle bir artış gözlemlenmemiştir ve artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P \leq 0,05$). *S. boulardii* ile *L. rhamnosus*'un ayrı ilave edildiği D1 ve D2 örneklerindeki canlı sayısında dinlendirme periyodu boyunca önemli değişiklik olmasına rağmen iki mikroorganizmanın birlikte inoküle edildiği D3 örneğinde istatistiksel olarak önemli düzeyde değişiklik olmamıştır. Dondurma işleminden sonra (1. Gün sayımında) sadece *L. rhamnosus* inoküle edilen D3 örneğinde önemli değişiklik olmamıştır. Depolama periyodu boyunca örneklerdeki probiyotik canlı sayısında azalma gözlemlenmiştir (Şekil 3.11). Dinlendirme sonrası *S. boulardii* inoküle edilen D4 ve D6 örnekleri için 1. gün sonunda inoküle edilen miktara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düşüş gözlemlenmiş olmasına rağmen, *L. rhamnosus* inoküle edilen D5 e D6 örneklerinde böyle bir ilişki gözlemlenmemiştir. Elde edilen veriler depolama periyodu boyunca probiyotik mikroorganizmaların ortama adapte olduğunu ve canlı sayısındaki düşüşün azaldığını göstermiştir. Ayrıca *L. rhamnosus*'un *S. boulardii*'ye göre dondurma ortamına daha hızlı adapte olduğu belirlenmiştir.

Pandiyan ve Pandiyan vd. [21,22] *S. boulardii* içeren probiyotik dondurma örneklerinin canlı sayısında depolama periyodu boyunca önemli bir düşüşün olduğunu belirtmişlerdir. Heenan vd. [18] yaptıkları çalışmada *L. rhamnosus*'un altı

aylık depolama periyodu boyunca 10^7 kob/g'dan daha fazla canlılık gösterdiğini buna karşın *S. boulardii*'nin yeterli canlılığı gösteremediğini ve arzu edilen düzey olan 10^6 kob/g'dan daha düşük düzeylere düştüğünü belirtmişlerdir. Abghari vd. [127] yaptıkları çalışmada 12 haftalık depolama süresi boyunca *L. rhamnosus* sayısında önemli bir düşüşün olmadığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda 28 günlük depolama periyodu boyunca hem *S. boulardii* hem de *L. rhamnosus* sayısının tüm örnekler için probiyotik ürünlerde arzu edilen 10^6 kob/g'dan daha fazla olduğu belirlenmiştir. Özellikle *S. boulardii* içeren probiyotik dondurma örneklerinin daha uzun süre probiyotik özellik gösterebilmesi için ilk başta inoküle edilen *S. boulardii* sayısının daha yüksek düzeylerde olması gerekmektedir. Bu duruma benzer olacak şekilde dondurma örneklerinin depolama periyodu boyunca probiyotik özellik gösterebilmesi için *S. boulardii*'nin başlangıç konsantrasyonunun 10^8 kob/g düzeylerinde olması gerektiği vurgulanmıştır [48].

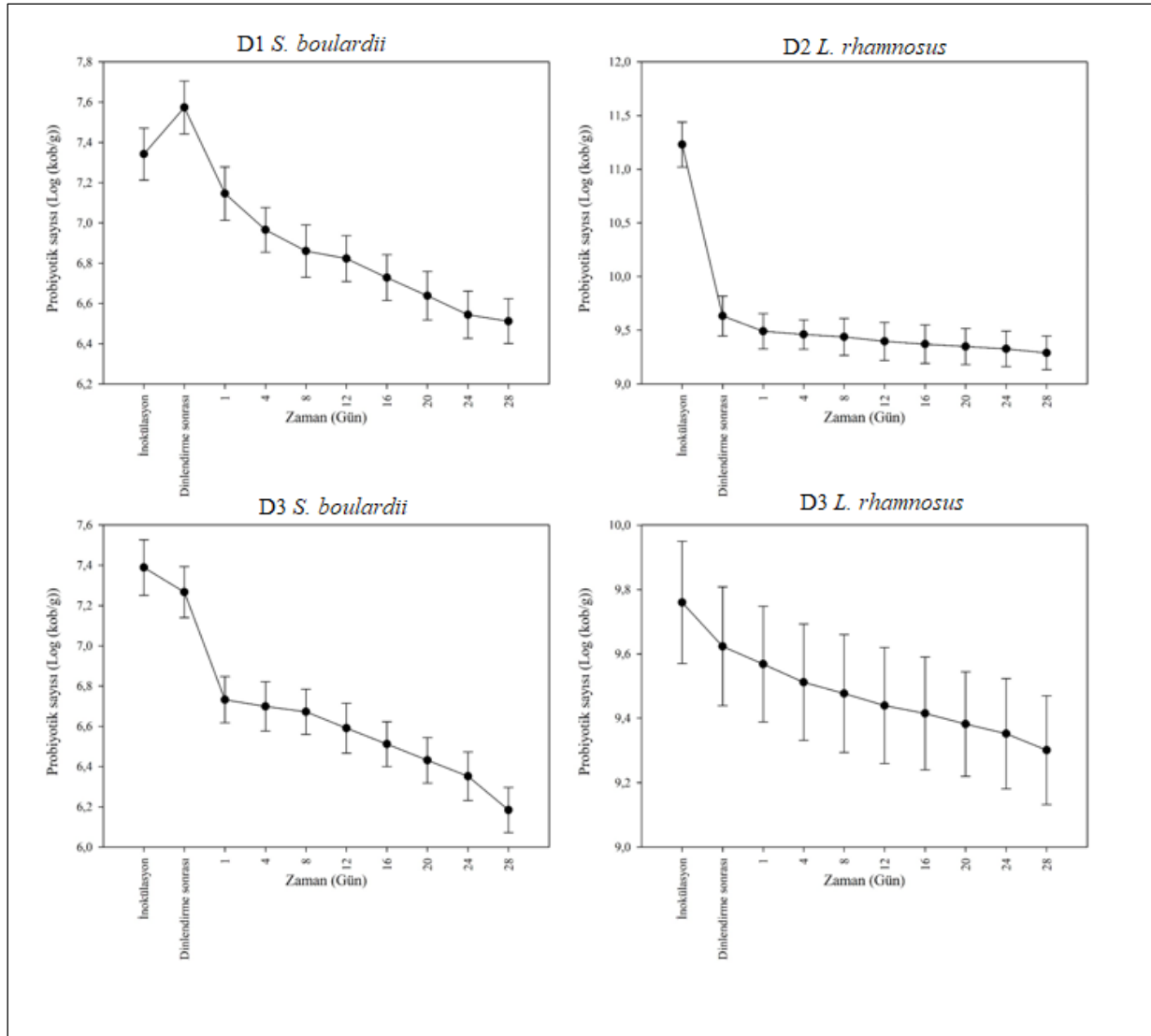


Şekil 3.10 Probiyotik dondurma örneklerindeki *S. boulardii* ve *L. rhamnosus*'a ait preparatların basit boyama mikroskop görüntüsü

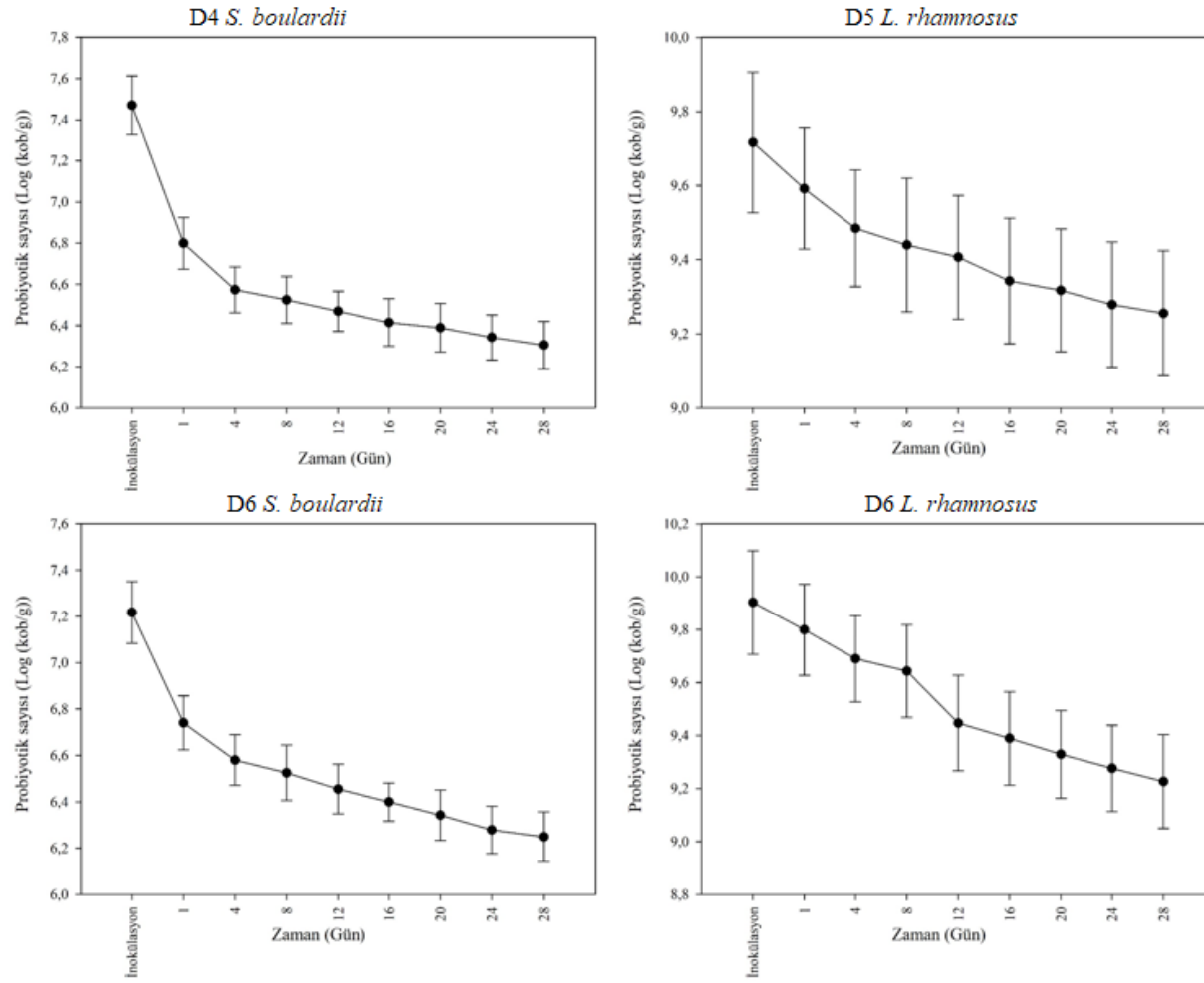
Tablo 3.7 Probiyotik dondurma örneklerinin canlı mikroorganizma sayıları

Depolama süresi	D1 <i>S. bouldarii</i>	D2 <i>L. rhamnosus</i>	D3 <i>S. bouldarii</i>	<i>L. rhamnosus</i>	D4 <i>S. bouldarii</i>	D5 <i>L. rhamnosus</i>	D6 <i>S. bouldarii</i>	<i>L. rhamnosus</i>
İno.	7,34 ±0,04 ^b	11,22 ±0,07 ^a	7,37 ±0,14 ^a	9,72 ±0,25 ^a	7,44 ±0,22 ^a	9,67 ±0,27 ^a	7,20 ±0,13 ^a	9,84 ±0,33 ^a
D.D.M.	7,57 ±0,06 ^a	9,61 ±0,19 ^b	7,26 ±0,04 ^a	9,60 ±0,18 ^{a,b}	-	-	-	-
1. gün	7,14 ±0,13 ^c	9,49 ±0,01 ^{b,c}	6,73 ±0,04 ^b	9,56 ±0,11 ^{a,b}	6,78 ±0,12 ^b	9,59 ±0,01 ^{a,b}	6,73 ±0,05 ^b	9,79 ±0,02 ^a
4. gün	6,97 ±0,02 ^{c,d}	9,46 ±0,00 ^{b,c}	6,69 ±0,12 ^b	9,5 ±0,14 ^{a,b}	6,57 ±0,04 ^{b,c}	9,48 ±0,01 ^{a,b,c}	6,57 ±0,03 ^{b,c}	9,69 ±0,01 ^{a,b}
8. gün	6,84 ±0,19 ^{d,e}	9,43 ±0,05 ^{b,c}	6,67 ±0,03 ^{b,c}	9,45 ±0,21 ^{a,b}	6,52 ±0,06 ^{c,d}	9,42 ±0,17 ^{a,b,c}	6,51 ±0,12 ^{c,d}	9,64 ±0,05 ^{a,b,c}
12. gün	6,82 ±0,03 ^{d,e,f}	9,38 ±0,12 ^c	6,57 ±0,17 ^{b,c,d}	9,42 ±0,17 ^{a,b}	6,46 ±0,01 ^{c,d}	9,40 ±0,03 ^{b,c}	6,45 ±0,03 ^{c,d,e}	9,42 ±0,18 ^{b,c,d}
16. gün	6,73 ±0,04 ^{e,f,g}	9,35 ±0,17 ^c	6,51 ±0,04 ^{b,c,d}	9,40 ±0,09 ^{a,b}	6,40 ±0,09 ^{c,d}	9,34 ±0,05 ^{b,c}	6,39 ±0,00 ^{d,e,f}	9,38 ±0,11 ^{b,c,d}
20. gün	6,63 ±0,09 ^{f,g,h}	9,34 ±0,04 ^c	6,42 ±0,06 ^{c,d,e}	9,38 ±0,02 ^b	6,37 ±0,14 ^{c,d}	9,31 ±0,03 ^c	6,34 ±0,05 ^{e,f}	9,32 ±0,03 ^{c,d}
24. gün	6,54 ±0,09 ^{g,h}	9,32 ±0,03 ^c	6,32 ±0,21 ^{d,e}	9,34 ±0,06 ^b	6,34 ±0,05 ^{c,d}	9,27 ±0,06 ^c	6,27 ±0,03 ^f	9,27 ±0,02 ^d
28. gün	6,51 ±0,05 ^h	9,28 ±0,01 ^c	6,17 ±0,10 ^e	9,29 ±0,06 ^b	6,29 ±0,12 ^d	9,25 ±0,06 ^c	6,24 ±0,06 ^f	9,20 ±0,18 ^d

Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklıdır (P≤0,05). D.D.M.: Dinlendirilmiş Dondurma Miksi. D1: *S. bouldardii* dinlendirme öncesi inokülasyon (d.ö.i), D2: *L. rhamnosus* (d.ö.i), D3: *S. bouldardii* ve *L. rhamnosus* (d.ö.i), D4: *S. bouldardii* dinlendirme sonrası inokülasyon (d.s.i), D5: *L. rhamnosus* (d.s.i), D6: *S. bouldardii* ve *L. rhamnosus* (d.s.i).



Şekil 3.11 Probiyotik dondurma örneklerinin canlı *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* sayıları



Şekil 3.11 Probiyotik dondurma örneklerinin canlı *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* sayıları (devamı)

3.4.3 Probiyotik Dondurma Örneklerinin Renk Özellikleri

Gıdaların renk özellikleri tüketiciler tarafından kalite göstergesi olarak kabul edilen en önemli özelliklerden biridir [133]. Renk parametreleri olarak kabul edilen parlaklık (L^*), sarılık (a^*) ve kırmızılık (b^*) değerleri Tablo 3.8’de gösterilmektedir. L^* değeri örneklerin parlaklığını göstermektedir. Dondurma örneklerinin parlaklık (L^*) değerleri 84,10 ile 86,46 arasında değişmiştir (kontrol ve D1, sırasıyla). Kontrol örneğine kıyasla probiyotik ilavesinin dondurmanın parlaklık değerleri üzerinde istatistiksel olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($P \leq 0,05$). *S. boulardii* ilavesinin parlaklık değerleri üzerinde daha fazla etkisinin olduğu görülmektedir ve en yüksek L^* değerleri *S. boulardii*’nin ayrı ilave edildiği örneklerde belirlenmiştir. Ancak dinlendirme öncesi ve dinlendirme sonrası probiyotik ilavesinin parlaklık değerleri üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır. Ayrıca 4 haftalık depolama periyodu sonunda probiyotik dondurma örneklerinin L^* değerleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Sarılık (a^*) değeri örneklerin kırmızılık değerini göstermekte olup -5,95 ile -6,26 arasında değişmektedir (D1 ve D5). Kontrol örneğiyle kıyaslandığında, dinlendirme öncesinde *S. boulardii* ilavesinin kırmızılık değerleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı buna karşın dinlendirme sonrası ilave edilen *S. boulardii*’nin ise kırmızılık değerleri üzerinde önemli bir etkisinin olduğu bulunmuştur ($P \leq 0,05$). *L. rhamnosus* ilavesinin ise dondurma örneklerinin kırmızılık değerleri üzerinde önemli bir etkisinin olduğu (D2 ve D5), ancak *S. boulardii* ile birlikte ilave edildiğinde bu etkiyi önemli olmadığı belirlenmiştir (D3 ve D6). Dondurma örneklerinin 4 haftalık depolama periyodu sonundaki kırmızılık değerlerinde sadece D2, D4 ve D5 örneklerinde anlamlı farklılık belirlenmiştir. Kırmızılık (b^*) değeri dondurma örneklerinin sarılık değerini göstermekte olup bu değerler 11,52 ile 14,61 (kontrol ve D5) arasında değişmektedir. Probiyotik ilavesinin dondurmanın sarılık değerleri üzerinde önemli bir etkisi olmuştur ($P \leq 0,05$). *S. boulardii* ilavesinin dondurma örneklerinin sarılık değerlerini düşürdüğü ancak *L. rhamnosus* ilavesinin ise sarılık değerlerini arttırdığı belirlenmiştir. Probiyotik dondurma örneklerinin sarılık değerleri 4 haftalık depolama periyodu sonunda farklılık göstermiş olup D1, D2, D4 ve D5 örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur.

Tablo 3.8 Probiyotik dondurma örneklerinin renk değerleri

Örnekler	1. Gün			30. Gün		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
D1	86,46 ± 0,45 ^a A	-5,95 ± 0,13 ^a B	12,44 ± 0,59 ^d C	85,86 ± 0,46 ^{b,c} A	-5,78 ± 0,09 ^a B	10,85 ± 0,66 ^d C
D2	85,40 ± 0,31 ^{b,c} A	-6,24 ± 0,11 ^b B	14,34 ± 0,27 ^{a,b,c} C	85,93 ± 0,19 ^a A	-5,90 ± 0,09 ^{a,b} B	12,68 ± 0,08 ^{a,b} C
D3	85,21 ± 0,99 ^c A	-6,14 ± 0,12 ^{a,b} B	14,35 ± 0,64 ^{a,b} C	84,74 ± 0,16 ^{b,c} A	-5,89 ± 0,15 ^{a,b} B	13,72 ± 0,26 ^a C
D4	86,04 ± 0,18 ^{a,b} A	-6,20 ± 0,03 ^b B	13,63 ± 0,19 ^{b,c} C	85,85 ± 0,54 ^a A	-5,91 ± 0,11 ^{a,b} B	12,22 ± 0,54 ^{b,c} C
D5	85,21 ± 0,16 ^c A	-6,26 ± 0,11 ^b B	14,61 ± 0,38 ^a C	85,55 ± 1,23 ^{a,b} A	-5,86 ± 0,22 ^{a,b} B	12,14 ± 1,46 ^{b,c} C
D6	85,87 ± 0,12 ^{a,b,c} A	-6,14 ± 0,18 ^{a,b} B	13,55 ± 0,45 ^c C	86,01 ± 0,64 ^a A	-5,99 ± 0,08 ^{a,b} B	13,09 ± 0,11 ^{a,b} C
Kontrol	84,10 ± 0,19 ^d A	-5,99 ± 0,08 ^a B	11,52 ± 0,49 ^e C	83,65 ± 0,35 ^c A	-6,06 ± 0,02 ^b B	11,38 ± 0,07 ^{c,d} C

Üstsel olarak gösterilen farklı harfler bir sütun içindeki istatistiksel farkı gösterir (P≤0,05). Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel farkı gösterir (P≤0,05). D1: *S. boulardii* dinlendirme öncesi inokülasyon (d.ö.i), D2: *L. rhamnosus* (d.ö.i), D3: *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* (d.ö.i), D4: *S. boulardii* dinlendirme sonrası inokülasyon (d.s.i), D5: *L. rhamnosus* (d.s.i), D6: *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* (d.s.i).

3.4.4 Probiyotik Dondurma Örneklerinin Erime Özellikleri

Dondurma örneklerinin erime davranışı, örneklerin hem raf ömrü stabilitesini hem de ağızda kalan tat gibi tüketici algısını etkiyebildiği için önem arz etmektedir [75]. T_{ilk} dondurma örneklerinin erimeye başladığı ilk sıcaklığı değerini, T_{pik} erime hızının en yüksek olduğu sıcaklık değerini, T_{son} erimenin tamamlanarak dondurmanın tamamen sıvı hale geçtiği sıcaklık değerini, Δh ise erimenin tamamlanması için gerekli olan enerji miktarını göstermektedir. Probiyotik dondurma örneklerinin erime değerleri Tablo 3.9'da gösterilmiştir. Dondurma örneklerinin T_{ilk} değerleri -13,73 ile -15,55°C arasında değişmektedir (D5 ve D1). T_{ilk} değerinde kontrol örneğiyle birlikte D1 ve D3 örnekleri istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte probiyotik ilavesinin dondurma örneklerinin T_{ilk} değerleri üzerinde olumlu bir etkisinin olduğu görülmektedir. T_{pik} değerleri ise 0,24 ile 1,80°C arasında değişmektedir (D3 ve D5). Dinlendirme öncesi *S. boulardii* ilavesinin dondurma örneklerinin T_{pik} değerleri üzerinde olumlu bir etkisinin olduğu ve en düşük değer *S. boulardii* ile birlikte *L. rhamnosus*'un ilave edildiği D3 örneğinde belirlenmiştir. *L. rhamnosus* ilavesinin ise hem dinlendirme öncesi hem de dinlendirme sonrası dondurma örneklerinin T_{pik} değerlerini arttırdığı belirlenmiştir. Erimenin tamamlandığını gösteren sıcaklık değerleri olan T_{son} değeri için sadece D1 ve D3 örnekleri kontrol örneğine göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P \leq 0,05$). Dondurma örneklerinin Δh değerleri 112,05 ile 128,25 arasında değişmiş olup kontrol örneğine göre sadece D1 örneği istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0,05$).

Tablo 3.9 Probiyotik dondurma örneklerinin erime değerleri

Örnekler	T _{ilk} (°C)	T _{pik} (°C)	T _{son} (°C)	Δh (j/g)
D1	-15,55 ± 0,04 ^c	0,31 ± 0,16 ^c	8,26 ± 0,60 ^b	112,05 ± 8,56 ^b
D2	-14,02 ± 0,11 ^{a,b}	1,75 ± 0,13 ^a	10,21 ± 0,23 ^a	124,40 ± 1,98 ^{a,b}
D3	-15,50 ± 0,34 ^c	0,24 ± 0,08 ^c	8,15 ± 0,29 ^b	120,75 ± 0,49 ^{a,b}
D4	-14,07 ± 0,04 ^{a,b}	1,56 ± 0,33 ^{a,b}	9,92 ± 0,41 ^a	120,70 ± 7,49 ^{a,b}
D5	-13,73 ± 0,15 ^a	1,80 ± 0,01 ^a	10,37 ± 0,08 ^a	127,00 ± 2,55 ^a
D6	-14,34 ± 0,04 ^b	1,19 ± 0,06 ^b	9,66 ± 0,04 ^a	125,15 ± 3,32 ^{a,b}
Kontrol	-15,47 ± 0,00 ^c	1,31 ± 0,14 ^b	10,21 ± 0,66 ^a	128,25 ± 9,26 ^a

Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklıdır ($P \leq 0,05$). D1: *S. boulardii* dinlendirme öncesi inokülasyon (d.ö.i), D2: *L. rhamnosus* (d.ö.i), D3: *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* (d.ö.i), D4: *S. boulardii* dinlendirme sonrası inokülasyon (d.s.i), D5: *L. rhamnosus* (d.s.i), D6: *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* (d.s.i).

3.4.5 Probiyotik Dondurma Örneklerinin Reolojik Özellikleri

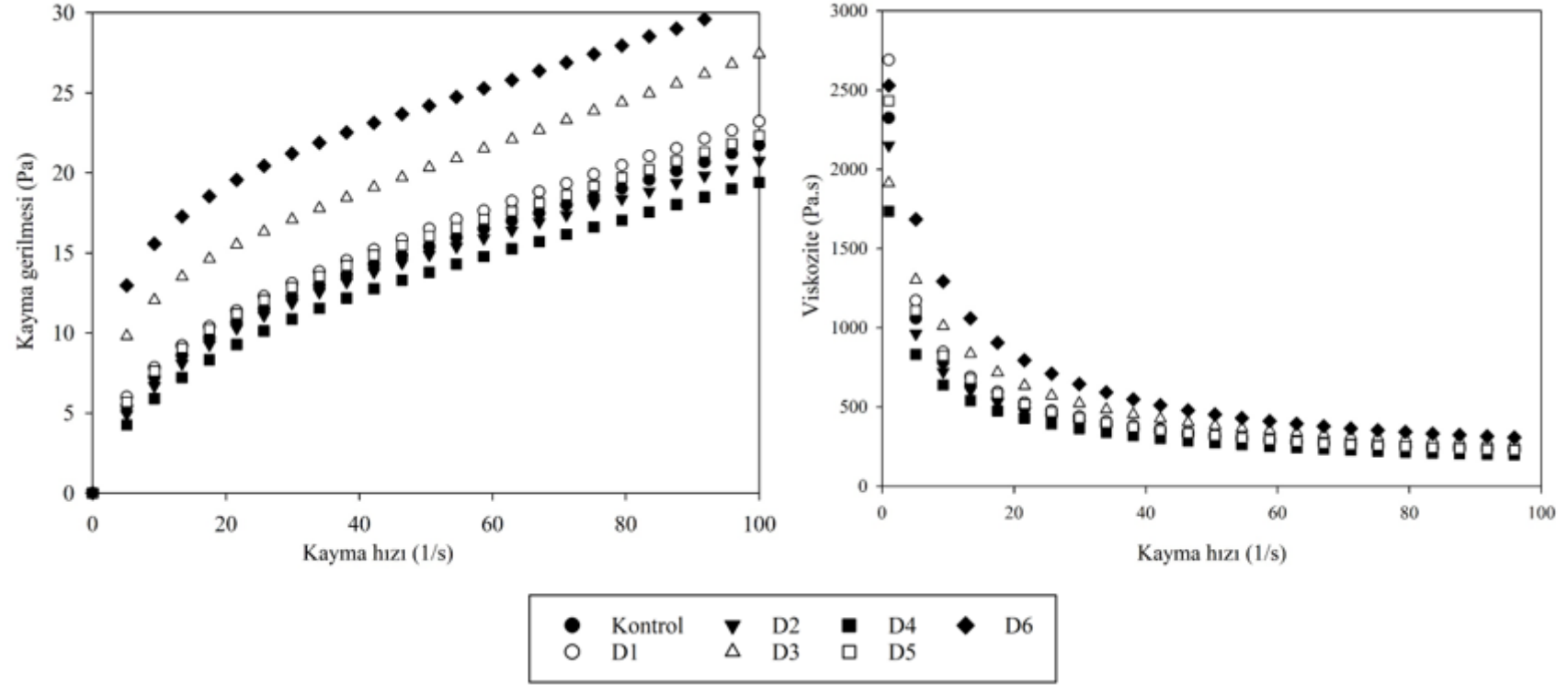
Probiyotik dondurma örneklerinin akış davranışları Şekil 3.11’de gösterilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere kayma hızı, kayma gerilmesine kıyasla daha yüksek artmıştır bu durum artan kesme hızı ile görünür viskozitenin azaldığını göstermektedir. Bu tür akış kayma incelmeleri olarak bilinmektedir [75]. Kayma hızına (shear rate) karşı kayma gerilmesi verileri Ostwald de Waele modeline uyarlanmıştır. Böylece probiyotik dondurma örneklerinin kıvam katsayısı ($K (\text{Pa.s})^n$), akış davranış indeksi (n) ve R^2 değerleri elde edilmiştir. Dondurma mikslерinin akış davranış indeksi 0,306 ile 0,512 arasında değişmiş olup bu tür akışlar kesmeyle inceltme (shear thinning) davranışı olarak bilinmektedir (Tablo 3.10). Yüksek n değerleri, Newtonian akış davranışı gösterdiğini işaret etmektedir, diğer bir ifadeyle daha düşük kesme inceltmesini göstermektedir. Bu durum, yani dondurma örneklerinin kesme inceltme seviyesi son ürünlerin işlenebilirliği ve özellikle duyuşal özellikler açısından önemlidir. Düşük kesme inceltmesi davranışı gösteren ürünlerin karıştırılması için gereken kuvvet, yüksek kesme inceltmesi gösteren

ürünlerin karıştırılması için gereken kuvvetten daha fazladır. Böyle bir durumda da gerekli olan enerji gereksinimi azalmaktadır ve son üründe istenilen doku ve ağız hissi oluşabilmektedir [75]. Elde edilen veriler ışığında, özellikle *S. boulardii* ile *L. rhamnosus*'un birlikte ilave edildiği hem dinlendirme öncesi hem de dinlendirme sonrasındaki ürünlerde akış davranış indeksi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P \leq 0,05$). *S. boulardii* ilavesinin dinlendirme öncesi ilavesinin önemli olmadığı buna karşın dinlendirme sonrasının ise istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0,05$). Ancak, *L. rhamnosus* ilavesinin hem dinlendirme hem de dinlendirme sonrasında ilavesinin anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($P \leq 0,05$). Kıvam katsayısı olarak bilinen K (Pa.s)ⁿ değerleri açısından probiyotik ilavesi farklılık göstermiştir. Bu bağlamda *S. boulardii* ile *L. rhamnosus*'un hem dinlendirme öncesi hem de dinlendirme sonrası birlikte ilavesinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu, ancak her iki probiyotik mikroorganizmanın ayrı ilave edildiği örneklerden sadece *S. boulardii*'nin dinlendirme sonrası ilavesinin anlamlı olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0,05$). Bu sonuçlar dondurma açısından kritik değerler olarak kabul edilen kıvam katsayısı ve akış davranış indeksi üzerinde *S. boulardii* ilavesinin önem arz ettiğini göstermiştir.

Tablo 3.10 Probiyotik dondurma örneklerinin Ostwald de Waele modeline göre belirlenmiş reolojik parametreleri

Örnekler	K (Pa.s) ⁿ	n	R^2
D1	$2,77 \pm 0,22^c$	$0,458 \pm 0,015^b$	0,9955
D2	$2,26 \pm 0,02^{c,d}$	$0,483 \pm 0,000^{a,b}$	0,9987
D3	$5,07 \pm 0,55^b$	$0,361 \pm 0,021^c$	0,9929
D4	$1,85 \pm 0,06^d$	$0,512 \pm 0,012^a$	0,9979
D5	$2,61 \pm 0,05^c$	$0,465 \pm 0,001^b$	0,9979
D6	$7,43 \pm 0,53^a$	$0,306 \pm 0,016^d$	0,9896
Kontrol	$2,46 \pm 0,07^{c,d}$	$0,470 \pm 0,008^b$	0,9985

Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklıdır ($P \leq 0,05$). D1: *S. boulardii* dinlendirme öncesi inokülasyon (d.ö.i), D2: *L. rhamnosus* (d.ö.i), D3: *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* (d.ö.i), D4: *S. boulardii* dinlendirme sonrası inokülasyon (d.s.i), D5: *L. rhamnosus* (d.s.i), D6: *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* (d.s.i).



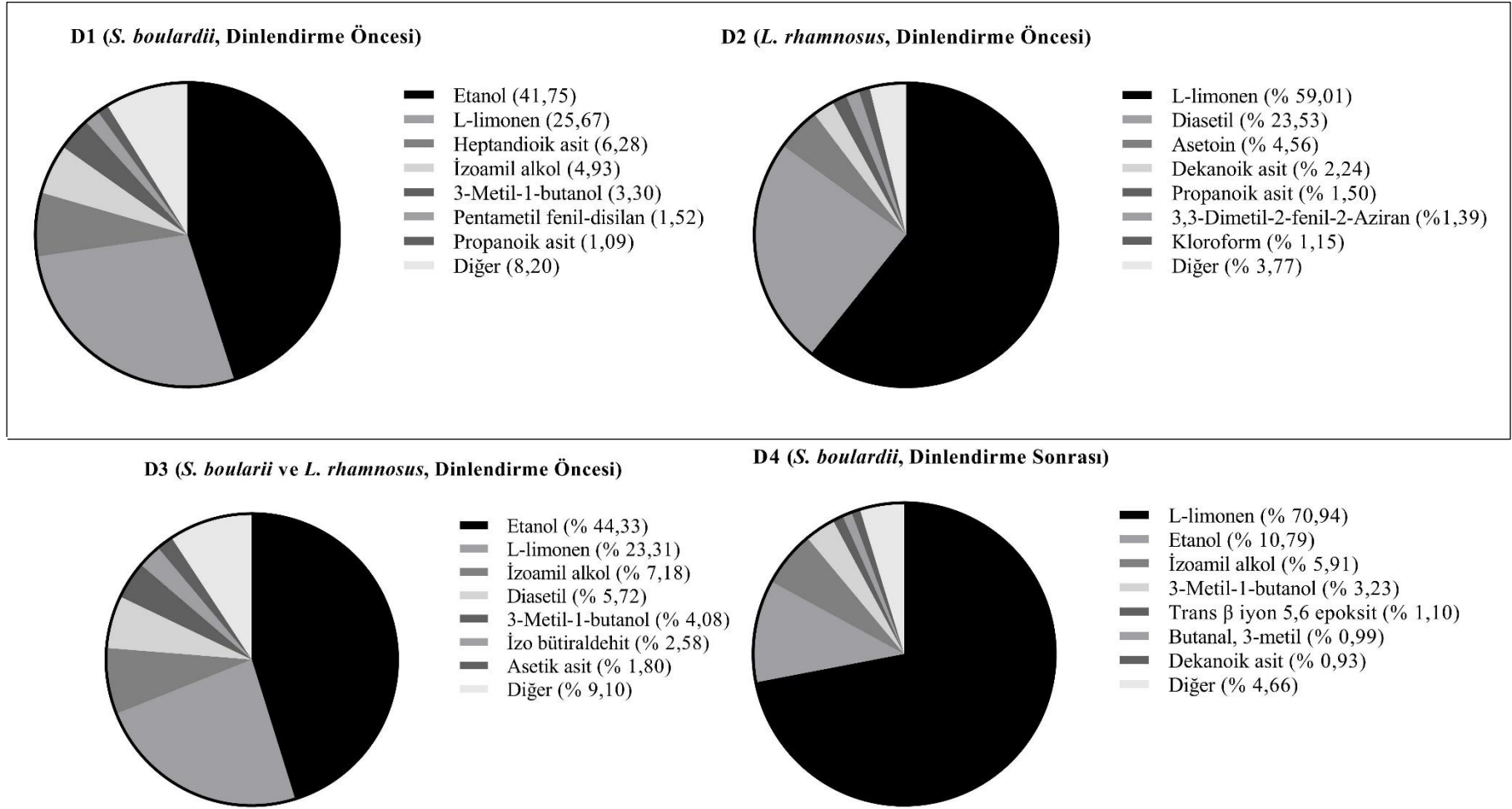
Şekil 3.12 Probiyotik dondurma örneklerinin akış davranışları

3.4.6 Probiyotik Dondurma Örneklerinin Uçucu Bileşenleri

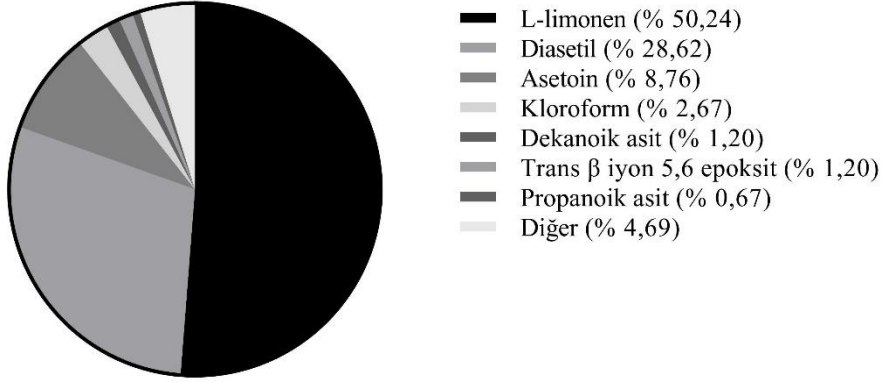
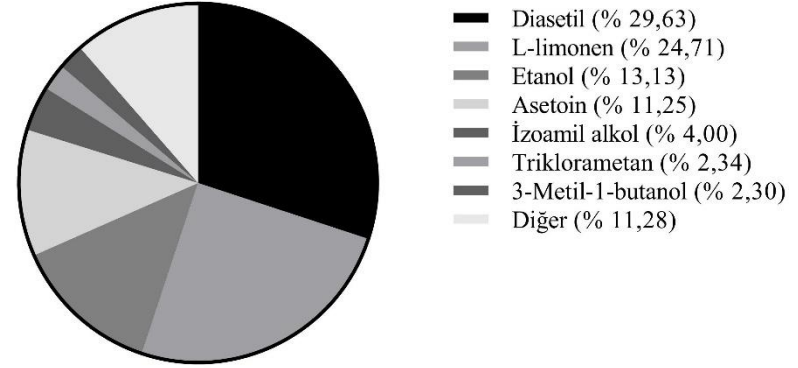
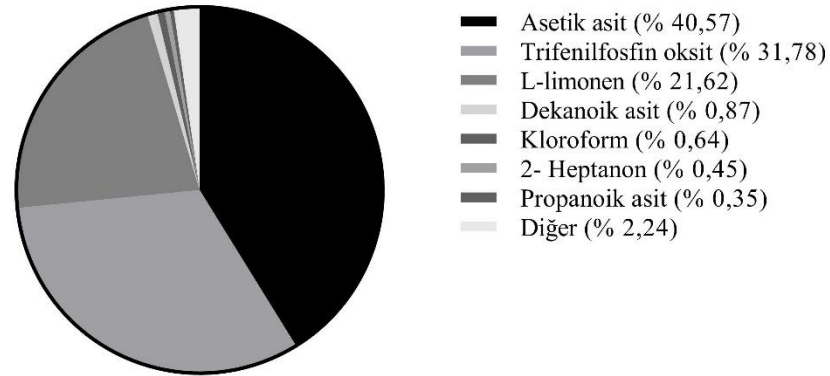
Gaz kromatografisi gıda endüstrisinin proses kontrolü ve kalite kontrolü gibi çeşitli alanlarında uçucu bileşenlerin belirlenmesi amacıyla etkin bir şekilde kullanılmaktadır [134]. Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi (GC-MS) tekniği, bilinmeyen bileşenleri yüksek oranda tanımlayabildiği için altın standart olarak kabul edilmektedir [135]. Fonksiyonel gıdaların tüketiciler tarafından beğenisinin belirlenmesi için uçucu bileşen analizi ürünlere geniş çapta uygulanmaktadır ve bu sayede duyu analizi verileri daha kapsamlı olarak değerlendirilmektedir [136]. Tüketiciler tarafından bir gıdanın değerlendirilmesinde ilk gösterge lezzettir ve eğer biyoaktif bileşenler arasında hoş olmayan tatlar bulunursa fonksiyonel ürün geliştirmeye olan ilgi azalmaktadır [137].

Probiyotik dondurma örneklerinin uçucu bileşenleri belirlenmiş olup Şekil 3.13'te gösterilmiştir. Tüm örneklerde ortak olarak tespit edilen uçucu bileşenler etanol, L-limonen, *n*-hekzadekan ve propanoik asit olmuştur. Dinlendirme öncesi ilave edilen probiyotik ilave edilen dondurma örnekleri için; *S. boulardii* ilave edilen D1 örneğinde sırasıyla etanol, L-limonen, heptandioik asit, izoamil alkol ve 3-metil-1-butanol (41,75, 25,67, 6,28, 4,93 ve 3,3.) temel uçucu bileşenler olmuştur, *L. rhamnosus* ilave edilen D2 örneğinde L-limonen, diasetil, asetoin, dekanoyik asit ve propanoik asit (59,01, 23,53, 4,56, 2,24 ve 1,50) temel uçucu bileşenlerdir, *S. boulardii* ile birlikte *L. rhamnosus* ilave edilen D3 örneğindeki uçucu bileşenler etanol, L-limonen, izoamil alkol, diasetil ve 3-metil-1-butanol (44,33, 23,31, 7,18, 5,72 ve 4,08) olarak belirlenmiştir. Dinlendirme sonrası ilave edilen probiyotik dondurma örnekleri için; *S. boulardii* ilave edilen D4 örneğinde L-limonen (70,94), etanol (10,79), izoamil alkol (5,91), 3-metil-1-butanol (3,23) ve trans β -iyon 5,6 epoksit (1,10) temel uçucu bileşenler olmuştur, *L. rhamnosus* ilave edilen D5 örneği için L-limonen (50,24), diasetil (28,62), asetoin (8,76), kloroform (2,67) ve dekanoyik asit (1,20) en fazla bulunan uçucu bileşenlerdir, *S. boulardii* ile birlikte *L. rhamnosus* ilave edilen D6 örneği için ise diasetil (29,63), L-limonen (24,71), etanol (13,13), asetoin (11,25) ve izoamil alkol (4,0) temel uçucu bileşenler olarak tespit edilmiştir. Kontrol örneğinde baskın olarak tespit edilen uçucu bileşenler ise asetik asit (40,57), trifenilfosfin oksit (31,78), L-limonen (21,62), dekanoyik asit (0,87) ve

kloroform (0,64) olarak bulunmuştur. Dinlendirme öncesi ve sonrası *S. boulardii* ile birlikte *L. rhamnosus* ilave edilen D3 ve D6 örneklerinde 1-butanol-3-metil asetat bulunmuştur. 3-metil-1-butanol, izoamil alkol ve asetaldehit *S. boulardii* ilave edilen tüm dondurma örneklerinde (D1, D3, D4 ve D6) tespit edilen uçucu bileşenler olmuştur. Buna karşın *L. rhamnosus* ilavesi edilen tüm örneklerde (D2, D3, D5 ve D6) asetoin tespit edilmiştir. Asetik asit etil ester, hekzanoik asit ve propanoik asit 2-hidroksi etil ester sadece dinlendirme öncesi *S. boulardii* ile birlikte *L. rhamnosus* ilave edilen D3 örneğinde tespit edilmiştir. Uçucu bileşen analizine göre probiyotik dondurma üretiminde *S. boulardii* ve *L. rhamnosus*'un birlikte ve ayrı ilave edildiği örneklerde farklı uçucu bileşenler tespit edilmiştir. Bu sayede probiyotik dondurma örneklerine farklı aroma ve tat verdikleri görülmüştür.



Şekil 3.13 Probiyotik dondurma örneklerinin uçucu bileşenleri

D5 (*L. rhamnosus*, Dinlendirme Sonrası)**D6 (*S. boulardii* ve *L. rhamnosus*, Dinlendirme Sonrası)****Kontrol****Şekil 3.13** Probiyotik dondurma örneklerinin uçucu bileşenleri (devamı)

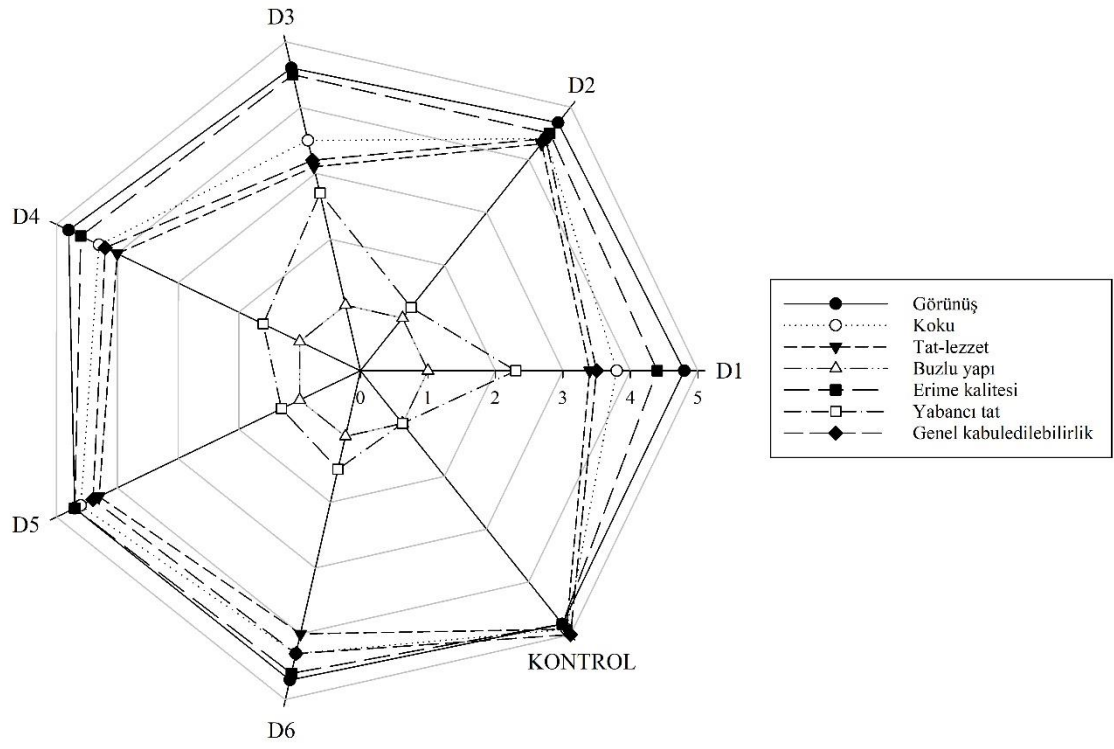
3.4.7 Probiyotik Dondurma Örneklerinin Duyusal Değerlendirmesi

Probiyotik dondurma örneklerinin duyusal değerlendirme sonuçları Şekil 3.14’de radar grafik yardımıyla gösterilmiştir. Değerlendirme görünüş, koku, tat-lezzet, buzlu yapı, erime kalitesi, yabancı tat ve genel değerlendirmek olmak üzere yedi farklı parametre üzerinden yapılmıştır. Tablo 3.11’de görüldüğü üzere, panelistler tarafından probiyotik dondurma örneklerinin görünüş, buzlu yapı ve erime kaliteleri kontrol örneğiyle benzer bulunmuştur ve istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). Probiyotik dondurma örneklerinin koku değerlendirmesi farklılık göstermiş olup D1 ve D3 örnekleri kontrol örneğine göre istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P\leq 0,05$). Dinlendirme sonrası probiyotik ilavesinin koku değerlendirmesi kontrol örneğine göre önemsiz bulunmuştur. Probiyotik dondurma örneklerinin tat-lezzet değerlendirmesi kontrol örneğine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P\leq 0,05$). Dinlendirme sonrası probiyotik ilavesinin kontrol örneğine daha yakın puanlar aldığı belirlenmiştir. Dinlendirme öncesi *S. boulardii* ilave edilen D1 ve D3 örneklerinde yabancı tat yüksek düzeyde algılanmış olup panelistler tarafından beğenilmemiştir ve bu durum istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($P\leq 0,05$). *L. rhamnosus* ilave edilen D2 ve D5 örneklerinde yabancı tat algılanmamış olup kontrol örneğiyle benzer bulunmuştur. Probiyotik dondurma örneklerinin genel kabul edilebilirliği kontrol örneğine göre kıyaslanmış olup istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P\leq 0,05$). Özellikle dinlendirme öncesi *S. boulardii* ilavesi yapılan D1 ve D3 örnekleri düşük puanlar almıştır (3,5 ve 3,2). Ancak özellikle dinlendirme sonrası probiyotik ilavesinin genel kabul edilebilirliği kontrol örneğine yakın bulunmuştur. Yapılan duyusal değerlendirme sonucuna göre dinlendirme öncesi ve/veya sonrası probiyotik ilavesinin önemli olduğu ve probiyotik dondurma ilavesinde dikkate alınması gereken bir parametre olduğu bulunmuştur.

Tablo 3.11 Probiyotik dondurma örneklerinin duyusal özellikleri

Örnekler	Görünüş	Koku	Tat- lezzet	Buzlu yapı	Erime kalitesi	Yabancı tat	Genel kabul
D1	4,8 ± 0,42 ^a	3,8 ± 0,92 ^{b,c}	3,4 ± 0,69 ^c	1,0 ± 0,00 ^a	4,4 ± 0,52 ^a	3,3 ± 0,67 ^a	3,5 ± 0,71 ^c
D2	4,7 ± 0,48 ^a	4,4 ± 0,52 ^{a,b}	4,3 ± 0,48 ^b	1,0 ± 0,00 ^a	4,5 ± 0,53 ^a	4,7 ± 0,42 ^{b,c}	4,4 ± 0,52 ^b
D3	4,6 ± 0,52 ^a	3,5 ± 1,23 ^c	3,1 ± 0,57 ^c	1,0 ± 0,00 ^a	4,5 ± 0,53 ^a	3,7 ± 0,67 ^a	3,2 ± 0,42 ^c
D4	4,8 ± 0,42 ^a	4,3 ± 0,82 ^{a,b}	4,0 ± 0,47 ^b	1,0 ± 0,00 ^a	4,6 ± 0,52 ^a	4,6 ± 0,52 ^b	4,2 ± 0,63 ^b
D5	4,7 ± 0,48 ^a	4,6 ± 0,52 ^a	4,3 ± 0,48 ^b	1,0 ± 0,00 ^a	4,7 ± 0,48 ^a	4,8 ± 0,48 ^{b,c}	4,4 ± 0,52 ^b
D6	4,7 ± 0,48 ^a	4,3 ± 0,67 ^{a,b}	4,0 ± 0,67 ^b	1,0 ± 0,00 ^a	4,6 ± 0,52 ^a	4,5 ± 0,53 ^b	4,3 ± 0,48 ^b
Kontrol	4,8 ± 0,42 ^a	4,9 ± 0,32 ^a	4,9 ± 0,32 ^a	1,0 ± 0,00 ^a	4,8 ± 0,42 ^a	5,0 ± 0,00 ^c	5,0 ± 0,00 ^a

Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklıdır (P≤0,05). D1: *S. boulardii* dinlendirme öncesi inokülasyon (d.ö.i), D2: *L. rhamnosus* (d.ö.i), D3: *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* (d.ö.i), D4: *S. boulardii* dinlendirme sonrası inokülasyon (d.s.i), D5: *L. rhamnosus* (d.s.i), D6: *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* (d.s.i).



Şekil 3.14 Probiyotik dondurma örneklerinin duyu analiz sonuçları

SONUÇ VE ÖNERİLER

S. boulardii dahil farklı probiyotik suşlar içeren geniş bir yelpazede probiyotik ürünler piyasada mevcuttur. Bu çalışmada, on bir farklı ticari üründen *S. boulardii* izolasyonu yapılarak PZR ve FT-IR tanımlamaları, probiyotik özellikleri ve probiyotik dondurma üretimi gerçekleştirilmiştir. Probiyotik özellikler açısından *S. boulardii* suşlarının gastorintestinal koşullara dirençli olduğu gözlemlenmiştir. pH 3 gibi asidik koşullarda ve safra tuzu varlığında gelişimlerini devam ettirdikleri belirlenmiştir. Ancak pH 2,5 gibi daha ekstrem koşullarda yalnız 3 suşun canlılığını devam ettirdiği belirlenmiştir. *S. boulardii* suşlarının test edilen tüm antibakteriyel antibiyotiklere dirençli olmasına rağmen antifungal antibiyotiklere ise duyarlı olduğu ve test edilen antibiyotiğe bağlı olarak farklı inhibisyon zonunun ölçüldüğü belirlenmiştir. *S. boulardii* suşlarının antibakteriyel aktivitelerinin suşa özgü değiştiği buna bağlı olarak test edilen patojenik bakterilere karşı önemli düzeyde antibakteriyel aktivite gösterdiği ve özellikle *S. Typhimurium* üzerindeki etkinin daha fazla olduğu belirlenmiştir. *S. boulardii* suşlarını gıdalarla ilişkili küflere karşı önemli düzeyde antifungal aktiviteye sahip oldukları görülmüştür. Ayrıca bu çalışma, piyasada bulunan *S. boulardii* suşlarının probiyotik özelliklerinin değişiklik gösterdiğini ortaya koymuştur.

S. boulardii suşlarının probiyotik özellikleri belirlendikten sonra en iyi özelliğe sahip suş seçilerek probiyotik dondurma üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla *L. rhamnosus* ile simbiyotik ilişkisi de ilk defa çalışılmıştır. *S. boulardii* ve *L. rhamnosus* dondurma örneklerine dinlendirme öncesi ve dinlendirme sonrası olmak üzere iki farklı aşamada birlikte ve ayrı ayrı inoküle edilerek probiyotik dondurma örneklerinin özellikleri incelenmiştir. *S. boulardii* ilavesinin dondurma örneklerinin renk özelliklerine olumlu katkısının olduğu belirlenmiştir. Probiyotik ilavesinin dondurma örneklerinde farklı uçucu bileşenler ortaya çıkardığı bu sayede farklı aroma ve lezzetin oluştuğu görülmüştür. *S. boulardii* ilavesinin dondurma örneklerinin reolojik özellikleri üzerinde olumlu bir etkisinin olabileceği

belirlenmiştir. Yeni bir ürün geliştirmede en temel ilke olarak tüketici beğenisi kabul edilmekte olup elde edilen duyusal veriler *S. boulardii*'nin dinlendirme sonrası ilavesinin daha iyi olduğunu göstermiştir. Ayrıca duyusal analiz verileri kontrol örneğiyle kıyaslandığında görünüş, erime kalitesi, buzlu yapı gibi birçok faktör üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Bu çalışma *S. boulardii*'nin probiyotik dondurma üretiminde kullanılabileceğini ve bu sayede insanların bu probiyotik mayaya daha kolay ve daha sık bir şekilde ulaşabileceğini göstermiştir.

-
- [1] [1] K. Arihara, Y. Nakashima, S. Ishikawa, and M. Itoh, "Antihypertensive activities generated from porcine skeletal muscle proteins by lactic acid bacteria," in 50th international congress of meat science and technology, 2004, vol. 236, pp. 8-13.
- [2] S. Scheinbach, "Probiotics: functionality and commercial status," *Biotechnology advances*, vol. 16, no. 3, pp. 581-608, 1998.
- [3] N. P. Shah, "Functional foods from probiotics and prebiotics: Functional Foods from Probiotics and Prebiotics," *Food technology (Chicago)*, vol. 55, no. 11, pp. 46-53, 2001.
- [4] C. H. Halsted, "Dietary supplements and functional foods: 2 sides of a coin?," *The American journal of clinical nutrition*, vol. 77, no. 4, pp. 1001S-1007S, 2003.
- [5] A. E. Sloan, "The top 10 functional food trends: the next generation," *Food technology (Chicago)*, vol. 56, no. 4, pp. 32-57, 2002.
- [6] R. Mohammadi and A. Mortazavian, "Technological aspects of prebiotics in probiotic fermented milks," *Food Reviews International*, vol. 27, no. 2, pp. 192-212, 2011.
- [7] S. Misra, P. Pandey, and H. N. Mishra, "Novel approaches for co-encapsulation of probiotic bacteria with bioactive compounds, their health benefits and functional food product development: A review," *Trends in Food Science & Technology*, 2021.
- [8] A. G. Cruz, A. E. Antunes, A. L. O. Sousa, J. A. Faria, and S. M. Saad, "Ice-cream as a probiotic food carrier," *Food Research International*, vol. 42, no. 9, pp. 1233-1239, 2009.
- [9] M. M. Salem, F. A. Fathi, and R. Awad, "Production of probiotic ice cream," *Polish journal of food and nutrition sciences*, vol. 14, no. 3, p. 267, 2005.
- [10] R. Mohammadi, A. M. Mortazavian, R. Khosrokhavar, and A. G. da Cruz, "Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties," *Annals of microbiology*, vol. 61, no. 3, pp. 411-424, 2011.
- [11] J. Hamilton-Miller, "Probiotics and prebiotics in the elderly," *Postgraduate Medical Journal*, vol. 80, no. 946, pp. 447-451, 2004.
- [12] Food, A. Organization, and W. H. Organization, *Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation*. FAO, 2006.
- [13] W. H. Holzapfel, P. Haberer, R. Geisen, J. Björkroth, and U. Schillinger, "Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition," *The American journal of clinical nutrition*, vol. 73, no. 2, pp. 365s-373s, 2001.

- [14] Z. M. Tomićić, R. R. Čolović, I. S. Čabarkapa, Đ. M. Vukmirović, O. M. Đuragić, and R. M. Tomićić, "Beneficial properties of probiotic yeast *Saccharomyces boulardii*," Food and Feed Research, vol. 43, no. 2, pp. 103-110, 2016.
- [15] A. GÜLBANDILAR, O. Mehtap, and M. DÖNMEZ, "Fonksiyonel gıda olarak kullanılan probiyotikler ve özellikleri," Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, vol. 10, no. 1, pp. 44-47, 2017.
- [16] M. I. Hossain, M. Sadekuzzaman, and S.-D. Ha, "Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review," Food research international, vol. 100, pp. 63-73, 2017.
- [17] A. K. Rai, A. Pandey, and D. Sahoo, "Biotechnological potential of yeasts in functional food industry," Trends in Food Science & Technology, vol. 83, pp. 129-137, 2019.
- [18] A. K. Rai and K. Jeyaram, "Role of yeasts in food fermentation," in Yeast diversity in human welfare: Springer, 2017, pp. 83-113.
- [19] C. Chaves-López *et al.*, "Impact of microbial cultures on proteolysis and release of bioactive peptides in fermented milk," Food microbiology, vol. 42, pp. 117-121, 2014.
- [20] A. K. Rai, S. Sanjukta, and K. Jeyaram, "Production of angiotensin I converting enzyme inhibitory (ACE-I) peptides during milk fermentation and their role in reducing hypertension," Critical reviews in food science and nutrition, vol. 57, no. 13, pp. 2789-2800, 2017.
- [21] H. Kumura, Y. Tanoue, M. Tsukahara, T. Tanaka, and K. Shimazaki, "Screening of dairy yeast strains for probiotic applications," Journal of dairy science, vol. 87, no. 12, pp. 4050-4056, 2004.
- [22] A. Saber, B. Alipour, Z. Faghfoori, and A. Y. Khosroushahi, "Secretion metabolites of probiotic yeast, *Pichia kudriavzevii* AS-12, induces apoptosis pathways in human colorectal cancer cell lines," Nutrition research, vol. 41, pp. 36-46, 2017.
- [23] A. Saber, B. Alipour, Z. Faghfoori, and A. Y. Khosroushahi, "Secretion metabolites of dairy *Kluyveromyces marxianus* AS41 isolated as probiotic, induces apoptosis in different human cancer cell lines and exhibit anti-pathogenic effects," Journal of Functional Foods, vol. 34, pp. 408-421, 2017.
- [24] T. Kelesidis and C. Pothoulakis, "Efficacy and safety of the probiotic *Saccharomyces boulardii* for the prevention and therapy of gastrointestinal disorders," Therapeutic advances in gastroenterology, vol. 5, no. 2, pp. 111-125, 2012.
- [25] D. Romanin *et al.*, "Probiotic yeast *Kluyveromyces marxianus* CIDCA 8154 shows anti-inflammatory and anti-oxidative stress properties in in vivo models," Beneficial microbes, vol. 7, no. 1, pp. 83-93, 2016.
- [26] H. Szajewska and M. Kołodziej, "Systematic review with meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus* GG in the prevention of antibiotic-associated

diarrhoea in children and adults," *Alimentary pharmacology & therapeutics*, vol. 42, no. 10, pp. 1149-1157, 2015.

- [27] M. Łukaszewicz, "*Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*–Probiotic Yeast," in *Probiotics*: IntechOpen, 2012.
- [28] L. V. McFarland, "*Saccharomyces boulardii* is not *Saccharomyces cerevisiae*," *Clinical Infectious Diseases*, vol. 22, no. 1, pp. 200-201, 1996.
- [29] J. L. Fietto *et al.*, "Molecular and physiological comparisons between *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*," *Canadian journal of microbiology*, vol. 50, no. 8, pp. 615-621, 2004.
- [30] C. Hennequin *et al.*, "Microsatellite typing as a new tool for identification of *Saccharomyces cerevisiae* strains," *Journal of clinical microbiology*, vol. 39, no. 2, pp. 551-559, 2001.
- [31] L. V. McFarland, "Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients," *World journal of gastroenterology: WJG*, vol. 16, no. 18, p. 2202, 2010.
- [32] A. van der Aa Kühle and L. Jespersen, "The taxonomic position of *Saccharomyces boulardii* as evaluated by sequence analysis of the D1/D2 domain of 26S rDNA, the ITS1-5.8 S rDNA-ITS2 region and the mitochondrial cytochrome-c oxidase II gene," *Systematic and applied microbiology*, vol. 26, no. 4, pp. 564-571, 2003.
- [33] B. Gedek, "Adherence of *Escherichia coli* serogroup O 157 and the *Salmonella typhimurium* mutant DT 104 to the surface of *Saccharomyces boulardii*," *mycoses*, vol. 42, no. 4, pp. 261-264, 1999.
- [34] I. Castagliuolo, J. T. LaMont, S. T. Nikulasson, and C. Pothoulakis, "*Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A effects in the rat ileum," *Infection and immunity*, vol. 64, no. 12, pp. 5225-5232, 1996.
- [35] A. Murzyn, A. Krasowska, P. Stefanowicz, D. Dziadkowiec, and M. Łukaszewicz, "Capric acid secreted by *S. boulardii* inhibits *C. albicans* filamentous growth, adhesion and biofilm formation," *Plos one*, vol. 5, no. 8, p. e12050, 2010.
- [36] A. Krasowska, A. Murzyn, A. Dyjankiewicz, M. Łukaszewicz, and D. Dziadkowiec, "The antagonistic effect of *Saccharomyces boulardii* on *Candida albicans* filamentation, adhesion and biofilm formation," *FEMS yeast research*, vol. 9, no. 8, pp. 1312-1321, 2009.
- [37] S. Thomas, D. Metzke, J. Schmitz, Y. Dörffel, and D. C. Baumgart, "Anti-inflammatory effects of *Saccharomyces boulardii* mediated by myeloid dendritic cells from patients with Crohn's disease and ulcerative colitis," *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2011.
- [38] J.-P. Buts, P. Bernasconi, J.-P. Vaerman, and C. Dive, "Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats

treated with *Saccharomyces boulardii*," Digestive diseases and sciences, vol. 35, no. 2, pp. 251-256, 1990.

- [39] A. Canonici *et al.*, "*Saccharomyces boulardii* improves intestinal cell restitution through activation of the $\alpha 2\beta 1$ integrin collagen receptor," PloS one, vol. 6, no. 3, p. e18427, 2011.
- [40] V. Venugopalan, K. A. Shriner, and A. Wong-Beringer, "Regulatory oversight and safety of probiotic use," Emerging infectious diseases, vol. 16, no. 11, p. 1661, 2010.
- [41] A. Van der Aa Kühle, K. Skovgaard, and L. Jespersen, "*In vitro* screening of probiotic properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* and food-borne *Saccharomyces cerevisiae* strains," International journal of food microbiology, vol. 101, no. 1, pp. 29-39, 2005.
- [42] A. Lourens-Hattingh and B. Viljoen, "Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products," Food Research International, vol. 34, no. 9, pp. 791-796, 2001.
- [43] A. Parrella *et al.*, "Antioxidant properties of different milk fermented with lactic acid bacteria and yeast," International journal of food science & technology, vol. 47, no. 12, pp. 2493-2502, 2012.
- [44] C. Karaolis, G. Botsaris, I. Pantelides, and D. Tsaltas, "Potential application of *Saccharomyces boulardii* as a probiotic in goat's yoghurt: survival and organoleptic effects," International journal of food science & technology, vol. 48, no. 7, pp. 1445-1452, 2013.
- [45] F. Fratianni *et al.*, "Fermentation of tomato juice with the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae boulardii*," ed: Nova Science Publisher: New York, NY, USA, 2013, pp. 143-152.
- [46] F. Fratianni *et al.*, "Ability of synbiotic encapsulated *Saccharomyces cerevisiae boulardii* to grow in berry juice and to survive under simulated gastrointestinal conditions," Journal of microencapsulation, vol. 31, no. 3, pp. 299-305, 2014.
- [47] N. Değirmencioğlu, O. Gurbuz, and Y. Şahan, "The monitoring, via an in vitro digestion system, of the bioactive content of vegetable juice fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*," Journal of Food Processing and Preservation, vol. 40, no. 4, pp. 798-811, 2016.
- [48] C. Heenan, M. Adams, R. Hosken, and G. Fleet, "Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert," LWT-Food Science and Technology, vol. 37, no. 4, pp. 461-466, 2004.
- [49] C. Rekha and G. Vijayalakshmi, "Bioconversion of isoflavone glycosides to aglycones, mineral bioavailability and vitamin B complex in fermented soymilk by probiotic bacteria and yeast," Journal of applied microbiology, vol. 109, no. 4, pp. 1198-1208, 2010.

- [50] E. P. Ryan, A. L. Heuberger, T. L. Weir, B. Barnett, C. D. Broeckling, and J. E. Prenni, "Rice bran fermented with *Saccharomyces boulardii* generates novel metabolite profiles with bioactivity," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 59, no. 5, pp. 1862-1870, 2011.
- [51] G. A. Bastos, E. M. Paulo, and A. C. N. Chiaradia, "Acceptability of potentially probiotic cereal bars," *Brazilian journal of food technology*, vol. 17, no. 2, pp. 113-120, 2014.
- [52] B. Posteraro, M. Sanguinetti, L. Romano, R. Torelli, L. Novarese, and G. Fadda, "Molecular tools for differentiating probiotic and clinical strains of *Saccharomyces cerevisiae*," *International journal of food microbiology*, vol. 103, no. 3, pp. 295-304, 2005.
- [53] J.-J. Liu *et al.*, "A Mutation in PGM2 causing inefficient galactose metabolism in the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii*," *Applied and environmental microbiology*, vol. 84, no. 10, 2018.
- [54] I. Khatri, R. Tomar, K. Ganesan, G. Prasad, and S. Subramanian, "Complete genome sequence and comparative genomics of the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii*," *Scientific reports*, vol. 7, no. 1, pp. 1-12, 2017.
- [55] K. Rajkowska and A. Kunicka-Styczyńska, "Probiotic activity of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* against human pathogens," *Food Technology and Biotechnology*, vol. 50, no. 2, pp. 230-236, 2012.
- [56] S. Graff, J.-C. Chaumeil, P. Boy, R. Lai-Kuen, and C. Charrueau, "Influence of pH conditions on the viability of *Saccharomyces boulardii* yeast," *The Journal of General and Applied Microbiology*, vol. 54, no. 4, pp. 221-227, 2008.
- [57] L. E. Hudson *et al.*, "Characterization of the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* in the healthy mucosal immune system," *PLoS One*, vol. 11, no. 4, p. e0153351, 2016.
- [58] A. K. Naimah, A. J. Abd Al-Manhel, and M. J. Al-Shawi, "Isolation, purification and characterization of antimicrobial peptides produced from *Saccharomyces boulardii*," *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, vol. 24, no. 3, pp. 455-461, 2018.
- [59] M. Salik and A. Arslaner, "The quality characteristics and shelf life of probiotic ice cream produced with Saruç and *Saccharomyces boulardii*," *International Food Research Journal*, vol. 27, no. 2, 2020.
- [60] R. Zamora-Vega, J. L. Montantilde, J. Venegas-González, A. Bernardino-Nicanor, L. G. Cruz, and H. E. Martínez-Flores, "Development and characterization of a symbiotic cheese added with *Saccharomyces boulardii* and inulin," *African Journal of Microbiology Research*, vol. 7, no. 23, pp. 2828-2834, 2013.
- [61] C. Pandiyan, R. A. Villi, G. Kumaresan, B. Murugan, and T. Gopalakrishnamurthy, "Development of synbiotic ice cream incorporating *Lactobacillus acidophilus* and *Saccharomyces boulardii*," *International Food Research Journal*, vol. 19, no. 3, p. 1233, 2012.

- [62] C. Pandiyan, "development of probiotic ice cream incorporated with *Saccharomyces boulardii* yeast."
- [63] C. P. Kurtzman, J. W. Fell, T. Boekhout, and V. Robert, "Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts," in *The yeasts*: Elsevier, 2011, pp. 87-110.
- [64] D. O. McClary, W. L. Nulty, and G. R. Miller, "Effect of potassium versus sodium in the sporulation of *Saccharomyces*," *Journal of bacteriology*, vol. 78, no. 3, p. 362, 1959.
- [65] R. Vilela *et al.*, "Molecular model for studying the uncultivated fungal pathogen *Lacazia loboi*," *Journal of clinical microbiology*, vol. 43, no. 8, pp. 3657-3661, 2005.
- [66] N. Saitou and M. Nei, "The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees," *Molecular biology and evolution*, vol. 4, no. 4, pp. 406-425, 1987.
- [67] K. Karaman, O. Sagdic, and M. Z. Durak, "Use of phytase active yeasts and lactic acid bacteria isolated from sourdough in the production of whole wheat bread," *LWT*, vol. 91, pp. 557-567, 2018.
- [68] A. M. Gil-Rodríguez, A. V. Carrascosa, and T. Requena, "Yeasts in foods and beverages: in vitro characterisation of probiotic traits," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 64, no. 2, pp. 1156-1162, 2015.
- [69] C. G. Vinderola and J. A. Reinheimer, "Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative "*in vitro*" study of probiotic characteristics and biological barrier resistance," *Food Research International*, vol. 36, no. 9-10, pp. 895-904, 2003.
- [70] H. İspirli, F. Demirbaş, and E. Dertli, "Characterization of functional properties of *Enterococcus faecium* strains isolated from human gut," *Canadian journal of microbiology*, vol. 61, no. 11, pp. 861-870, 2015.
- [71] S. Bonatsou *et al.*, "Evaluating the probiotic potential and technological characteristics of yeasts implicated in cv. Kalamata natural black olive fermentation," *International journal of food microbiology*, vol. 271, pp. 48-59, 2018.
- [72] F. Demirbaş, H. İspirli, A. A. Kurnaz, M. T. Yilmaz, and E. Dertli, "Antimicrobial and functional properties of lactic acid bacteria isolated from sourdoughs," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 79, pp. 361-366, 2017.
- [73] O. Sagdic, A. Aksoy, and G. Ozkan, "Evaluation of the antibacterial and antioxidant potentials of cranberry (*Viburnum opulus* L.) fruit extract," *Acta Alimentaria*, vol. 35, no. 4, pp. 487-492, 2006.
- [74] A. Kurt, A. Cengiz, and T. Kahyaoglu, "The effect of gum tragacanth on the rheological properties of salep based ice cream mix," *Carbohydrate Polymers*, vol. 143, pp. 116-123, 2016.
- [75] Y. Durmaz, M. Kilicli, O. S. Toker, N. Konar, I. Palabiyik, and F. Tamtürk, "Using spray-dried microalgae in ice cream formulation as a natural colorant: Effect

on physicochemical and functional properties," *Algal Research*, vol. 47, p. 101811, 2020.

- [76] A. Kurt, S. Çakmakçı, and A. Çağlar, "Süt ve mamülleri muayene ve analiz metotları rehberi (Genişletilmiş 8. Baskı)," Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum, 238s, 2003.
- [77] A. S. Akalın, C. Karagözlü, and G. Ünal, "Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate and inulin," *European Food Research and Technology*, vol. 227, no. 3, pp. 889-895, 2008.
- [78] M. I. Molina, S. Petruccelli, and M. C. Añón, "Effect of pH and ionic strength modifications on thermal denaturation of the 11S globulin of sunflower (*Helianthus annuus*)," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 52, no. 19, pp. 6023-6029, 2004.
- [79] E. Dertli *et al.*, "Development of a fermented ice-cream as influenced by in situ exopolysaccharide production: Rheological, molecular, microstructural and sensory characterization," *Carbohydrate Polymers*, vol. 136, pp. 427-440, 2016.
- [80] E. Tulukcu, N. Cebi, and O. Sagdic, "Chemical fingerprinting of seeds of some *Salvia* species in Turkey by using GC-MS and FTIR," *Foods*, vol. 8, no. 4, p. 118, 2019.
- [81] C. Soukoulis, E. Lyroni, and C. Tzia, "Sensory profiling and hedonic judgement of probiotic ice cream as a function of hydrocolloids, yogurt and milk fat content," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 43, no. 9, pp. 1351-1358, 2010.
- [82] G. Cardinali and A. Martini, "Electrophoretic karyotypes of authentic strains of the sensu stricto group of the genus *Saccharomyces*," *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 44, no. 4, pp. 791-797, 1994.
- [83] O. Molnar, R. Messner, H. Prillinger, U. Stahl, and E. Slavikova, "Genotypic identification of *Saccharomyces* species using random amplified polymorphic DNA analysis," *Systematic and applied microbiology*, vol. 18, no. 1, pp. 136-145, 1995.
- [84] C. Kurtzman, J. W. Fell, and T. Boekhout, *The yeasts: a taxonomic study*. Elsevier, 2011.
- [85] S. Josepa, J. M. Guillamon, and J. Cano, "PCR differentiation of *Saccharomyces cerevisiae* from *Saccharomyces bayanus*/*Saccharomyces pastorianus* using specific primers," *FEMS microbiology letters*, vol. 193, no. 2, pp. 255-259, 2000.
- [86] M. Arici, G. Ozulku, R. M. Yildirim, O. Sagdic, and M. Z. Durak, "Biodiversity and technological properties of yeasts from Turkish sourdough," *Food science and biotechnology*, vol. 27, no. 2, pp. 499-508, 2018.
- [87] D. Naumann, D. Helm, H. Labischinski, and P. Giesbrecht, "The characterization of microorganisms by Fourier-transform infrared

spectroscopy (FT-IR)," Modern techniques for rapid microbiological analysis, vol. 43, p. 96, 1991.

- [88] M. Wenning, S. Scherer, and D. Naumann, "Infrared spectroscopy in the identification of microorganisms," Handbook of Vibrational Spectroscopy, 2006.
- [89] M. Wenning, H. Seiler, and S. Scherer, "Fourier-transform infrared microspectroscopy, a novel and rapid tool for identification of yeasts," Applied and environmental microbiology, vol. 68, no. 10, pp. 4717-4721, 2002.
- [90] T. García-Cayuela *et al.*, "Adhesion abilities of dairy *Lactobacillus plantarum* strains showing an aggregation phenotype," Food Research International, vol. 57, pp. 44-50, 2014.
- [91] B. Kos, J. Šušković, S. Vuković, M. Šimpraga, J. Frece, and S. Matošić, "Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92," Journal of applied microbiology, vol. 94, no. 6, pp. 981-987, 2003.
- [92] B. ÇELEBİ, T. Recep, H. AKŞİT, and H. U. ÇELEBİOĞLU, "Effects of Loganic Acid isolated from Vinca soneri on Surface Hydrophobicity and Auto-Aggregation of Probiotic Bacteria, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*," Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, vol. 13, no. 1, pp. 115-122.
- [93] A. M. Gut, T. Vasiljevic, T. Yeager, and O. N. Donkor, "Characterization of yeasts isolated from traditional kefir grains for potential probiotic properties," Journal of Functional Foods, vol. 58, pp. 56-66, 2019.
- [94] J. C. Amorim, R. H. Piccoli, and W. F. Duarte, "Probiotic potential of yeasts isolated from pineapple and their use in the elaboration of potentially functional fermented beverages," Food Research International, vol. 107, pp. 518-527, 2018.
- [95] T. Oliveira, E. Ramalhosa, L. Nunes, J. A. Pereira, E. Colla, and E. L. Pereira, "Probiotic potential of indigenous yeasts isolated during the fermentation of table olives from Northeast of Portugal," Innovative Food Science & Emerging Technologies, vol. 44, pp. 167-172, 2017.
- [96] C. D. Powell, D. E. Quain, and K. A. Smart, "The impact of brewing yeast cell age on fermentation performance, attenuation and flocculation," FEMS Yeast Research, vol. 3, no. 2, pp. 149-157, 2003.
- [97] A. Touhami, B. Hoffmann, A. Vasella, F. A. Denis, and Y. F. Dufrêne, "Aggregation of yeast cells: direct measurement of discrete lectin-carbohydrate interactions," Microbiology, vol. 149, no. 10, pp. 2873-2878, 2003.
- [98] O. Sagdic, I. Ozturk, N. Yapar, and H. Yetim, "Diversity and probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from gilaburu, a traditional Turkish fermented European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit drink," Food research international, vol. 64, pp. 537-545, 2014.

- [99] L. J. Kiely and N. F. Olson, "The physicochemical surface characteristics of *Lactobacillus casei*," Food Microbiology, vol. 17, no. 3, pp. 277-291, 2000.
- [100] M. Rosenberg, D. Gutnick, and E. Rosenberg, "Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity," FEMS microbiology letters, vol. 9, no. 1, pp. 29-33, 1980.
- [101] A. Naidu, W. Bidlack, and R. Clemens, "Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB)," Critical reviews in food science and nutrition, vol. 39, no. 1, pp. 13-126, 1999.
- [102] A. G. T. Menezes, C. L. Ramos, G. Cenzi, D. S. Melo, D. R. Dias, and R. F. Schwan, "Probiotic potential, antioxidant activity, and phytase production of indigenous yeasts isolated from indigenous fermented foods," Probiotics and Antimicrobial Proteins, vol. 12, no. 1, pp. 280-288, 2020.
- [103] C. Lara-Hidalgo *et al.*, "Isolation of yeasts from guajillo pepper (*Capsicum annum* L.) fermentation and study of some probiotic characteristics," Probiotics and antimicrobial proteins, vol. 11, no. 3, pp. 748-764, 2019.
- [104] J. K. Kaushik, A. Kumar, R. K. Duary, A. K. Mohanty, S. Grover, and V. K. Batish, "Functional and probiotic attributes of an indigenous isolate of *Lactobacillus plantarum*," PloS one, vol. 4, no. 12, p. e8099, 2009.
- [105] Y. Xu *et al.*, "Probiotic potential and amylolytic properties of lactic acid bacteria isolated from Chinese fermented cereal foods," Food Control, vol. 111, p. 107057, 2020.
- [106] C.-C. Tsai *et al.*, "Antagonistic activity against *Salmonella* infection in vitro and in vivo for two *Lactobacillus* strains from swine and poultry," International Journal of Food Microbiology, vol. 102, no. 2, pp. 185-194, 2005.
- [107] K. Rajkowska and A. Kunicka-Styczynska, "Probiotic properties of yeasts isolated from chicken feces and kefir," Pol J Microbiol, vol. 59, no. 4, pp. 257-263, 2010.
- [108] H. S. Ochangco, A. Gamero, I. M. Smith, J. E. Christensen, L. Jespersen, and N. Arneborg, "*In vitro* investigation of *Debaryomyces hansenii* strains for potential probiotic properties," World Journal of Microbiology and Biotechnology, vol. 32, no. 9, p. 141, 2016.
- [109] S.-Y. Kim, H. Kim, and H.-J. Chae, "Selection of probiotic yeasts from soil, characterization and application for feed additives," Journal of Applied Biological Chemistry, vol. 47, no. 1, pp. 20-26, 2004.
- [110] S. Moslehi-Jenabian, L. Lindegaard, and L. Jespersen, "Beneficial effects of probiotic and food borne yeasts on human health," Nutrients, vol. 2, no. 4, pp. 449-473, 2010.
- [111] D. Czerucka and P. Rampal, "Experimental effects of *Saccharomyces boulardii* on diarrheal pathogens," Microbes and infection, vol. 4, no. 7, pp. 733-739, 2002.
- [112] N. Asha, D. Tompkins, and M. Wilcox, "Comparative analysis of prevalence, risk factors, and molecular epidemiology of antibiotic-associated diarrhea

due to *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus*," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 44, no. 8, pp. 2785-2791, 2006.

- [113] L. Beaugerie and J.-C. Petit, "Antibiotic-associated diarrhoea," *Best practice & research Clinical gastroenterology*, vol. 18, no. 2, pp. 337-352, 2004.
- [114] J. A. Katz, "Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* diarrhea," *Journal of clinical gastroenterology*, vol. 40, no. 3, pp. 249-255, 2006.
- [115] C. L. Rohde, V. Bartolini, and N. Jones, "The use of probiotics in the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea with special interest in *Clostridium difficile*-associated diarrhea," *Nutrition in clinical practice*, vol. 24, no. 1, pp. 33-40, 2009.
- [116] M. Kotowska, P. Albrecht, and H. Szajewska, "*Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a randomized double-blind placebo-controlled trial," *Alimentary pharmacology & therapeutics*, vol. 21, no. 5, pp. 583-590, 2005.
- [117] C. M. Surawicz *et al.*, "The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: use of high-dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*," *Clinical infectious diseases*, vol. 31, no. 4, pp. 1012-1017, 2000.
- [118] K. Dixit, D. Gandhi, and P. Chauhan, "Selection and characterization of potential probiotic *Saccharomyces* strains isolated from fruits, fermented food and dairy products," *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, vol. 4, no. 4, pp. 249-256, 2009.
- [119] C. R. Berni, S. Cucchiara, R. Cuomo, F. Pace, and F. Papale, "*Saccharomyces boulardii*: a summary of the evidence for gastroenterology clinical practice in adults and children," *European review for medical and pharmacological sciences*, vol. 15, no. 7, p. 809, 2011.
- [120] A. Tasteyre, M.-C. Barc, T. Karjalainen, P. Bourlioux, and A. Collignon, "Inhibition of *in vitro* cell adherence of *Clostridium difficile* by *Saccharomyces boulardii*," *Microbial pathogenesis*, vol. 32, no. 5, pp. 219-225, 2002.
- [121] J.-P. Buts, N. Dekeyser, C. Stilmant, E. Delem, F. Smets, and E. Sokal, "*Saccharomyces boulardii* produces in rat small intestine a novel protein phosphatase that inhibits *Escherichia coli* endotoxin by dephosphorylation," *Pediatric Research*, vol. 60, no. 1, pp. 24-29, 2006.
- [122] L. Hedstrom, "Serine protease mechanism and specificity," *Chemical reviews*, vol. 102, no. 12, pp. 4501-4524, 2002.
- [123] H. Rima, L. Steve, and F. Ismail, "Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel applications," *Frontiers in microbiology*, vol. 3, p. 421, 2012.
- [124] A. Zaouche *et al.*, "Effects of oral *Saccharomyces boulardii* on bacterial overgrowth, translocation, and intestinal adaptation after small-bowel

resection in rats," Scandinavian journal of gastroenterology, vol. 35, no. 2, pp. 160-165, 2000.

- [125] A. Naimah, A. Al-Manhel, and M. Al-Shawi, "Study of inhibitory spectrum of metabolic extract from *Saccharomyces boulardii* yeast against some food related bacteria," Pakistan Journal of Food Sciences, vol. 27, no. 1, pp. 26-32, 2017.
- [126] A. Sarwar *et al.*, "Characterization of synbiotic ice cream made with probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 in combination with inulin," LWT, p. 110910, 2021.
- [127] A. Abghari, M. Sheikh-Zeinoddin, and S. Soleimanian-Zad, "Nonfermented ice cream as a carrier for *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*," International journal of food science & technology, vol. 46, no. 1, pp. 84-92, 2011.
- [128] A. K. Niamah, A. J. Al-Manhel, and S. T. G. Al-Sahlany, "EFFECT MICROENCAPSULATION OF *Saccharomyces boulardii* ON VIABILITY OF YEAST IN VITRO AND ICE CREAM," Carpathian Journal of Food Science & Technology, vol. 10, no. 3, 2018.
- [129] C. Alamprese, R. Foschino, M. Rossi, C. Pompei, and S. Corti, "Effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG addition in ice cream," International journal of dairy technology, vol. 58, no. 4, pp. 200-206, 2005.
- [130] F. M. Anjum, M. Z. Sabir, M. I. Khan, and I. Pasha, "Sugar utilization behavior of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) types and doses on bread quality," Nutrition & Food Science, 2010.
- [131] Y.-K. Lee and S. Salminen, "The coming of age of probiotics," Trends in Food Science & Technology, vol. 6, no. 7, pp. 241-245, 1995.
- [132] S. N. Casarotti and A. L. B. Penna, "Acidification profile, probiotic in vitro gastrointestinal tolerance and viability in fermented milk with fruit flours," International Dairy Journal, vol. 41, pp. 1-6, 2015.
- [133] C. Chranioti, A. Nikoloudaki, and C. Tzia, "Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system," Carbohydrate Polymers, vol. 127, pp. 252-263, 2015.
- [134] M. Sermakkani and V. Thangapandian, "GC-MS analysis of Cassia italica leaf methanol extract," Asian J Pharm Clin Res, vol. 5, no. 2, pp. 90-94, 2012.
- [135] A. Chauhan, M. K. Goyal, and P. Chauhan, "GC-MS technique and its analytical applications in science and technology," J. Anal. Bioanal. Tech, vol. 5, no. 6, p. 222, 2014.
- [136] C. Arancibia, C. Castro, L. Jublot, E. Costell, and S. Bayarri, "Colour, rheology, flavour release and sensory perception of dairy desserts. Influence of thickener and fat content," LWT-Food Science and Technology, vol. 62, no. 1, pp. 408-416, 2015.

- [137] A. G. Cruz *et al.*, "Sensory analysis: relevance for prebiotic, probiotic, and synbiotic product development," *Comprehensive reviews in food science and food safety*, vol. 9, no. 4, pp. 358-373, 2010.

***S. boulardii* SUŞLARININ 26S GEN DİZİ SONUÇLARI**

S1

AGGGCATGCCTTAGTACGGCGAGTGAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACC
 TTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCTTGTCTATGTT
 CCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTT
 GTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAA
 TTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAA
 AGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAA
 GGGCATTGTGATCAGACATGGTGTTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTC
 GCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTT
 GCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACG
 TAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTGAACCCACGGAGAACA
 CAAAA

S2

ATGGATGCTTAGTACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCT
 TCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCTTGTCTATGTTC
 CTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTT
 GTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAA
 TTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAA
 AGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAA
 GGGCATTGTGATCAGACATGGTGTTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTC
 GCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTT
 GCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACG
 TAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTAACACCACGGAGAAAC
 AAATAAA

S3

AGGCATGCTTAGTACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCT
TCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCTTGTCTATGTTT
CTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTT
GTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAA
TTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAA
AGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAA
GGGCATTTGATCAGACATGGTGTTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTC
GCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTT
GCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACG
TAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTAACCCCGGGACCCAAA
AAA

S4

CGGGTATGCCTTAGTACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTAC
CTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCTTGTCTATGT
TCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTT
TGTAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAA
ATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGA
AAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGA
AGGGCATTTGATCAGACATGGTGTTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCT
CGCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCT
TGCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGAC
GTAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTAAAAACACGAAACAC
AAAAAAA

S5

AGGTATGCTTAGTACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCT
TCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTTT
CTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTT
GTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAA
TTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAA
AGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAA
GGGCATTTGATCAGACATGGTGTGTTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTC
GCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTT
GCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACG
TAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTAAAAACCAGCGGGAAC
AAATA

S6

AGGGTATGCTTAGTACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACC
TTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTT
CCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTT
GTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAA
TTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAA
AGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAA
GGGCATTTGATCAGACATGGTGTGTTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTC
GCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTT
GCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACG
TAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTGACCACCCGGGACCCA
AAAA

S7

AGGTATGCCTTAGTACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACC
TTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCTTGTCTATGTT
CCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTT
GTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAA
TTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAA
AGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAA
GGGCATTTGATCAGACATGGTGTTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTC
GCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTT
GCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACG
TAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTAAACCCACGGAGCACA
AAAAAA

S8

AGGTATGCTTAGTACGGCGAGTGAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTT
CGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCTTGTCTATGTTCC
TTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTTG
TAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAAT
TCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAAA
GATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAG
GGCATTTGATCAGACATGGTGTTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTCG
CATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTTG
CCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACGT
AAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTACACCACCGAAAAACAAA
AAA

S9

AGGGCATGCCTTAGTACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTAC
CTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTTCCTTGTCTATGT
TCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTT
TGTAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAA
ATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGA
AAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGA
AGGGCATTTGATCAGACATGGTGTGTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCT
CGCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCT
TGCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGAC
GTAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTGACCCCCGGAGACCA
AAAAA

S10

AGGTATGCTTAGTACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCT
TCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTTCCTTGTCTATGTTC
CTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTT
GTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAA
TTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAA
AGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAA
GGGCATTTGATCAGACATGGTGTGTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTC
GCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTT
GCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACG
TAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTAAAAACCCCGAACACA
CAAAAA

S11

AGGTCTGCTTAGTACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCT
TCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCTTGTCTATGTTT
CTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTT
GTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAA
TTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAA
AGATGAAAAGAAGCTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAA
GGGCATTTGATCAGACATGGTGTTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTC
GCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTT
GCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACG
TAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTGACACCCCGAGAACAC
AAAAA

PROBİYOTİK DONDURMA ÖRNEKLERİNİN DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

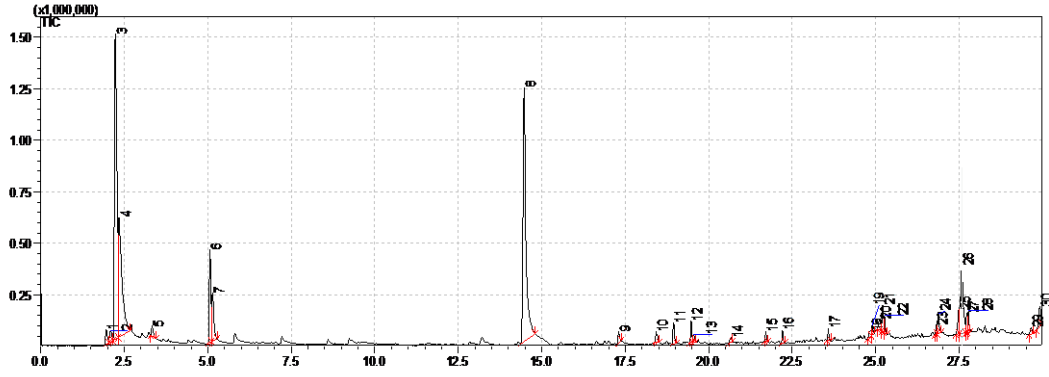
Duyusal parametreler	Örnekler						
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	Kontrol
Renk/Görünüş							
Koku							
Tat/Lezzet							
Buzlu yapı							
Erime kalitesi							
Yabancı tat							
Genel kabul							

1=çok kötü, 2=kötü, 3=orta, 4=iyi, 5=çok iyi

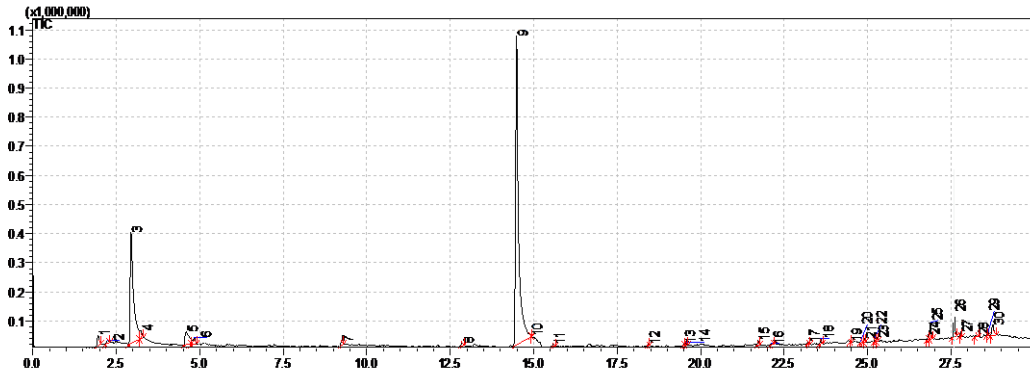
C

PROBİYOTİK DONDURMA ÖRNEKLERİNİN UÇUCU BİLEŞENLERİNİN GC-MS KROMATOGRAMLARI

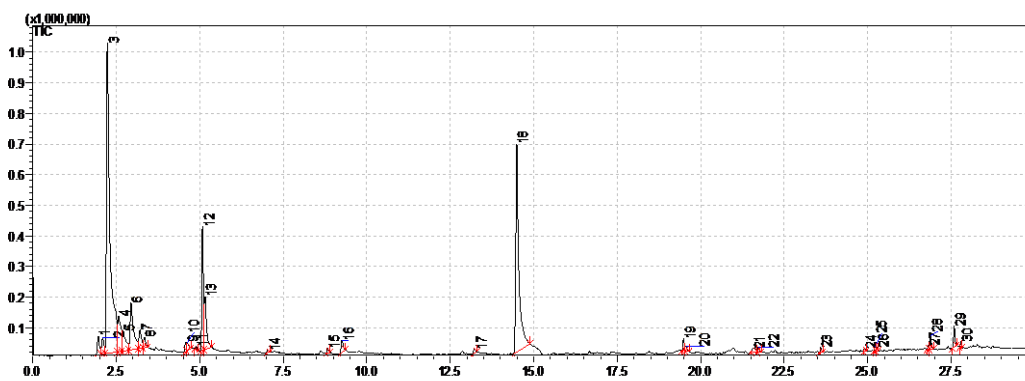
D1 *S.boulardii*



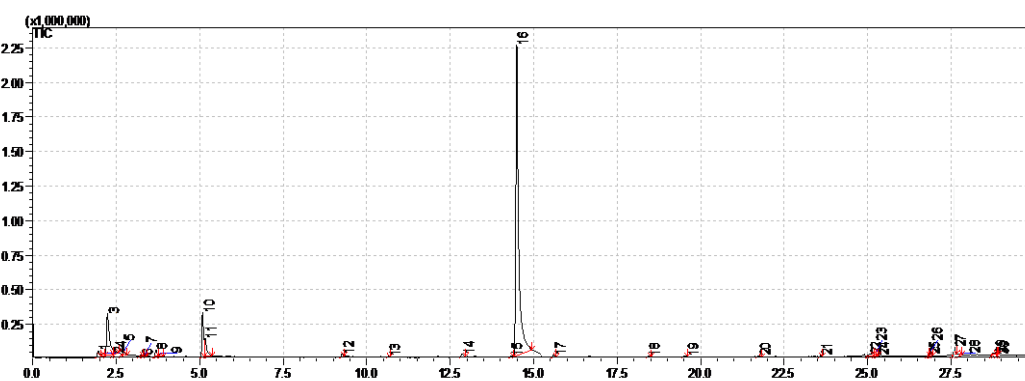
D2 *L. rhamnosus*



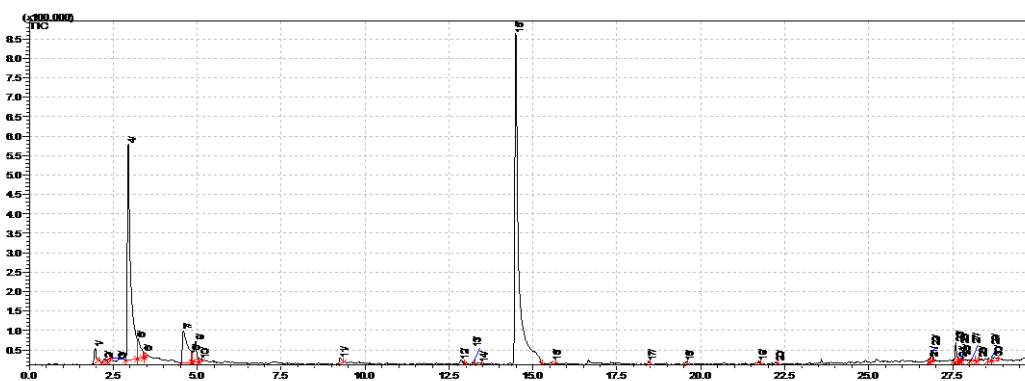
D3 *S. boulardii/L. rhamnosus*



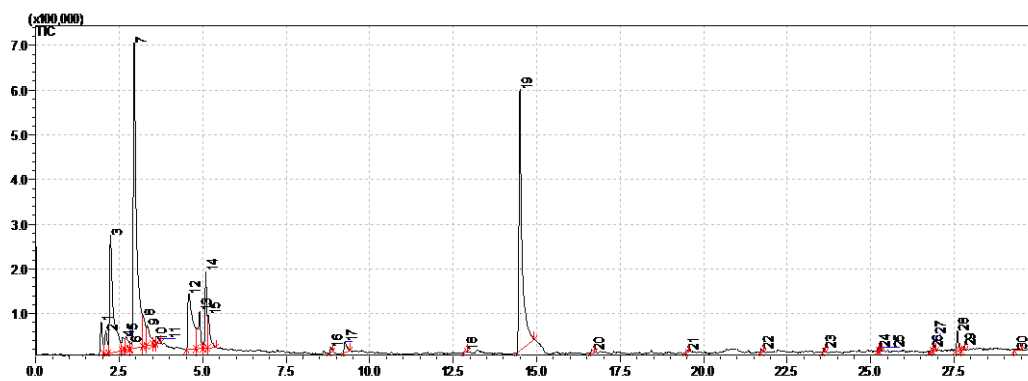
D4 *S. boulardii*



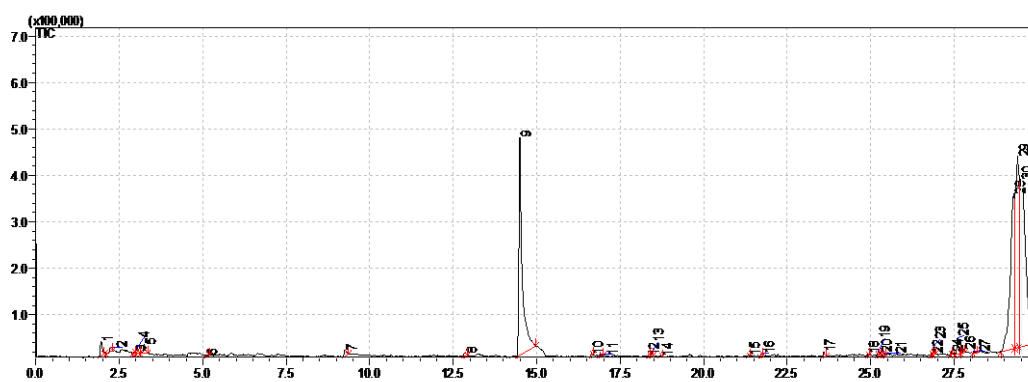
D5 *L. rhamnosus*



D6 *S. boulardii*/*L. rhamnosus*



Kontrol



TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

İletişim Bilgisi: hamzagoktas@yandex.com

Konferans Bildirileri

1. **Goktas, H.**, E. Dertli., O. Sagdic, "Fermente gıdalar, meyveler ve ticari ürünlerden *S. boulardii* suşlarının izolasyonu ve fenotipik karakteristiklerinin belirlenmesi". International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry (BioTechBioChem 2020), 16-18 December 2020, Ankara / Turkey.

Makaleler

1. **H. Goktas**, E. Dertli, and O. Sagdic, "Comparison of functional characteristics of distinct *Saccharomyces boulardii* strains isolated from commercial food supplements," LWT, vol. 136, p. 110340, 2020.