

ULTRASON UYGULAMASININ YOĞURT BENZERİ FERMENTE SÜT ÜRÜNÜNDE FARKLI PROBİYOTİK LAKTOBASİL TÜRLERİNİN CANLILIĞI ÜZERİNE ETKİSİ

Vildan AKDENİZ*

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 20.10.2022 Kabul / Accepted: 12.01.2023 Online baskı / Published online: 18.01.2023

Akdeniz, V. (2023). Ultrason uygulamasının yoğurt benzeri fermente süt ürününde farklı probiyotik laktobasil türlerinin canlılığı üzerine etkisi. GIDA (2023) 48 (1) 107-117 doi: 10.15237/gida.GD22100

Akdeniz, V. (2023). Effect of ultrasound application on viability of different probiotic Lactobacillus species in yogurt-like fermented dairy product. GIDA (2023) 48 (1) 107-117 doi: 10.15237/gida.GD22100

ÖZ

Bu çalışmada ultrason uygulamasının farklı probiyotik laktobasil (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* GG) türlerinin canlılığına etkisini incelenmiştir. Ayrıca, ultrason uygulamasının fermentasyon süresine etkisi de saptanmıştır. Bu amaçla süte önce 15 dk süreyle 400 W ultrason uygulanmış ve kültür ilavesi sonrasında da 5 dk süreyle 100 W ultrason uygulanarak fermentasyon süresi belirlenmiş ve elde edilen yoğurt benzeri probiyotik fermente süt ürününde probiyotik bakteri sayımı gerçekleştirilmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda ultrason uygulamasının *L. acidophilus* ve *L. casei* ile aşılana örneklerde fermentasyon süresini kısalttığı ve *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. rhamnosus* GG probiyotik bakterilerinin canlılığını arttırdığı saptanmıştır. Bu sonuçlar, ultrason uygulamasının süt teknolojisinde gelecek vaat ettiğini ve probiyotik fermente süt ürünleri üretiminde kullanılma potansiyeli olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Ultrason, probiyotik, fermente süt ürünü

EFFECT OF ULTRASOUND APPLICATION ON VIABILITY OF DIFFERENT PROBIOTIC LACTOBACILLUS SPECIES IN YOGURT-LIKE FERMENTED DAIRY PRODUCT

ABSTRACT

In this study, the effect of ultrasound on the viability of different probiotic lactobacilli species (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* GG) was investigated. In addition, the effect of ultrasound application on the fermentation time was determined. For this purpose, first 400 W ultrasound was applied to the milk for 15 minutes, and after the culture addition, 100 W ultrasound was applied for 5 minutes, then the fermentation time was determined, and the probiotic bacteria count was performed in the yogurt-like probiotic fermented milk product obtained. As a result of the study, it was determined that the application of ultrasound shortened the fermentation time in the samples inoculated with *L. acidophilus* and *L. casei*, and increased the viability of *L. acidophilus*, *L. casei* and *L. rhamnosus* GG probiotic bacteria. These results show that the ultrasound application is promising in dairy technology and has the potential to be used in the production of probiotic fermented milk products.

Keywords: Ultrasound, probiotic, fermented milk product

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

vildan.akdeniz@ege.edu.tr,

☎ (+90) 232 311 2733/4471,

☎ (+90) 232 342 5713

Vildan Akdeniz; ORCID no: 0000-0002-2288-7832

GİRİŞ

Günümüzde tüm dünyada sağlığın gıda tercihindeki rolü artmaktadır. Yapılan araştırmalar tüketilen gıdaların bireyin sağlığını doğrudan etkilediğini ortaya koymaktadır. Bilinçli tüketicilerin artması ve beslenme ile sağlık arasındaki ilişkinin ortaya çıkması sonucu probiyotik içeren gıdalara doğru bir eğilim söz konusudur (Sarkar, 2010). Probiyotikler, yeterli miktarda alındığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Dinkçi vd., 2019). Laktik asit bakterilerinin en önemli gruplarından biri olan laktobasiller, gıda teknolojisinde oldukça önemli bir yere sahiptir. Hastaliksız bir yaşam için sağlıklı bir bağırsak kavramı ilk olarak 19. yüzyılın başlarında ortaya çıkmış ve *Lactobacillus acidophilus* ilk olarak biberonla beslenen bebeklerin dışkılarından izole edilerek "*Bacillus acidophilus*" olarak adlandırılmıştır (Kneifel ve Bonaparte, 2003). Sonrasında bu bakterinin insan sindirim sistemi bozuklukları üzerinde etkili olduğu ortaya çıkmış (Kopeloff ve Cheney, 1922) ve *L. acidophilus* içeren probiyotik ürünler giderek popüler hale gelmiştir (Ryan vd., 2020). 1930 yılında *Lactobacillus casei* şusu keşfedilmiştir. *L. casei* antimikrobiyel, antidiyareik ve antimutajenik etkisinin kanıtlanması ile probiyotik olarak dikkat çekmiştir (Srinivasan ve Meyer, 2006; Wendakoon vd., 2007). Ayrıca *L. casei*'nin anti-kanser, kolesterol düşürücü, bağışıklık sistemini güçlendirici, kan şekeri seviyesini düzenleyici, patojen mikroorganizmaları inhibe edici etkileri bulunmaktadır (Matsuzaki vd., 2007; Sömer vd., 2012). *L. rhamnosus* GG ise ilk olarak Gorbach ve Goldin tarafından 1985 yılında izole edilmiştir ve gastrointestinal kanalda hayatta kalma ve kolonize olma kabiliyeti sayesinde günümüzde gastrointestinal hastalıklarda sıklıkla kullanılan probiyotik bakterilerden biri haline gelmiştir (Goldin vd. 1992; Jia vd., 2016). Bağırsak florasını düzenleme, ishali önleme, toksinleri ortadan kaldırma ve ayrıca dış çürüklerine karşı bağışıklığı artırma gibi etkileri bulunmaktadır (Jia vd., 2016; Sun vd. 2019).

Probiyotiklerin sağlık üzerinde bağırsak florasını iyileştirme, diyareyi önleme, bağışıklık sistemini aktive etme, kanda kolesterol seviyesini düşürme,

kanseri önleme, mineral absorpsiyonunu güçlendirme gibi olumlu etkileri vardır. Çalışmalar probiyotiklerin sağlık üzerindeki olumlu etkisini gösteren çok sayıda kanıt sunmaktadır (Matsuzaki vd., 2007; Sömer vd., 2012; Foysal vd., 2020). Ancak bu yararların ortaya çıkması için bağırsak sistemine canlı olarak ulaşmaları ve dünya çapındaki birçok gıda organizasyonu tarafından açıklandığı üzere gıda maddesinin en az 10^6 - 10^7 kob/g probiyotik bakteri içermesi gerekmektedir. Bu nedenle, ürünün raf ömrü boyunca bu bakteriler yüksek oranda canlılığını koruyabilmelidir (Shori, 2016). Fakat probiyotik fermente süt ürünlerinde özellikle asitlik ve oksijenin etkisi sebebiyle probiyotik bakteriler stabil değildir. Bu sebeple probiyotik bakterilerin canlılığını teşvik edici uygulamalar günümüzde önem kazanmış ve probiyotik özellikleri geliştirmeyi amaçlayan yeni teknolojik yöntemler ön plana çıkmıştır (Lacroix ve Yıldırım, 2007; Akalın ve Erisir, 2008; Bakr, 2015). Ultrason bu konuda gelecek vaat eden bir teknoloji olarak karşımıza çıkmaktadır (Nguyen vd., 2009; Nguyen vd., 2016; Potoroko vd., 2018; Guimaraes vd., 2019).

Ultrason teknolojisi insan duyma eşliğinin üst sınırı olan 20 kHz'den daha yüksek bir frekansa sahiptir (Higuera-Barraza vd., 2016). Yeşil teknoloji olarak adlandırılan ultrason, güvenli, basit, hızlı ve toksik etkisi bulunmayan ses dalgaları aracılığıyla çevre dostu proseslerin oluşturulmasını sağlayan nispeten ucuz bir teknolojidir (Arzeni vd., 2012). Ses enerjisi sürekli dalga tipi bir hareket oluşturarak ortama girdiğinde, bu hareketin bir sonucu olarak boylamsal dalgalar oluşmakta ve bu durumda ortamdaki partiküller üzerinde bir sıkışma ve gevşeme meydana gelmektedir. Uygulanan ses dalgasının büyüklüğü ve kullanılan frekansa bağlı olarak çok çeşitli uygulamalara olanak sağlayan bir seri fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal etkiler gerçekleşmektedir (Knorr vd., 2004; Akdeniz ve Akalın, 2017). Süt teknolojisinde genellikle 20 ile 40 kHz frekans aralığında yüksek enerjili ultrason uygulamaları kullanılmakta olup bu uygulamalar süt sanayinde geniş bir kullanım potansiyeli bulmuştur (Mohammadi vd., 2014; Ashokkumar, 2015).

Ultrason işleminin probiyotik bakteri canlılığını geliştirilmesi, membran geçirgenliğini artırması ve hücre zarında geçici gözenekler oluşturmasına bağlanmaktadır. Bu sayede atık ürünlerin hücreden uzaklaştırılması ve aynı zamanda hücrenin büyümesi için gerekli oksijen ve besinlerin hücre zarından geçişi kolaylaşmaktadır (Pitt ve Ross, 2003; Wu ve Nyborg, 2008; Lentacker vd., 2014). Bununla birlikte, β -galaktosidaz gibi hücre içi enzimlerin hücre dışına salınması ile transgalaktosilasyon ve laktoz hidrolizi ve ayrıca gelişme faktörü olarak adlandırılan bazı bileşenlerin açığa çıkması ile probiyotik bakterilerin kullanabileceği besin miktarı artmaktadır. Ultrason uygulaması ile meydana gelen tüm bu değişimler sonucunda da mikrobiyal gelişme teşvik edilmektedir (Nguyen vd., 2009; Nguyen vd., 2012; Guimaraes vd., 2019).

Yapılan bu çalışmada, ultrason uygulamasının *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. rhamnosus* GG probiyotik bakterilerinin gelişimine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla aşılama öncesi ve sonrası ultrason işlemi uygulanan süttten üretilen yoğurt benzeri fermente süt ürünlerinde probiyotik bakteri sayıları belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan çiğ inek sütü Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü'nden tedarik edilmiştir. Probiyotik kültürler, *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. rhamnosus* GG, Chr. Hansen (Denmark) firmasından dondurularak kurutulmuş formda sağlanmıştır.

Yöntem

Süt Analizleri

Sütte yağ oranı Gerber yöntemiyle (AOAC, 2002), asitlik titrasyon yöntemiyle % laktik asit cinsinden (AOAC, 2000), kurumadde miktarı gravimetrik olarak (AOAC, 2000) ve pH değeri Microprocessor pH-meter (Hanna Instruments, USA) ile belirlenmiştir.

Ultrason Uygulaması

Çiğ süt 6 kısma ayrılarak 3 kısım süte ultrason uygulanmış, diğer 3 kısım ise kontrol örneklerini

oluşturmuştur. Ultrason işlemi için 13 mm'lik titanyum proba sahip, 20 kHz sabit frekansta çalışan Nanolinker NL650 Ultrasonik Processor (Mormed, İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır. Ultrason probu, behere konan 200 mL'lik süt örneklerine 30 mm'lik bir derinliğe kadar daldırılmıştır. İşlem boyunca süt örneklerinin sıcaklığı kontrol edilmiş ve sıcaklık artışı tespit edilmemiştir. Önceki çalışmalara (Nguyen vd., 2009; Potoroko vd., 2018; Akdeniz ve Akalın, 2022) istinaden önce çiğ süte 400 W ultrason 15 dk boyunca uygulanmış, sonrasında ısı işlem ve kültür ile aşılama takiben 100 W ultrason 5 dk boyunca uygulanarak sütler pH 4.75'e kadar fermente edilmiştir.

Yoğurt Benzeri Fermente Süt Ürünü Üretimi

Yoğurt benzeri fermente süt ürünü üretimi Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla EÜ Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü'nden 4°C'de alınan % 3.53 yağ, % 11.54 toplam kurumadde, % 0.172 laktik asit ve 6.70 pH değerlerine sahip çiğ inek sütü kullanılmıştır. 60°C'ye ısıtılan süt 6 kısma ayrılmış ve 3 kısma (L1, L2 ve L3 grupları) önceki çalışmalar ışığında (Akdeniz ve Akalın, 2022) 400 W'da 15 dk ultrason işlemi uygulanmıştır. Ultrason işlemi uygulanmayan 3 kısım süt ise K1, K2 ve K3 grupları olarak kontrol örneklerini oluşturmuştur. 85°C 15 dk pastörizasyon işleminden sonra sütler yaklaşık 45°C'ye soğutularak L1 grubu ve ultrason uygulanmayan kontrol K1 grubu probiyotik kültür *L. acidophilus* ile, L2 grubu ve K2 kontrol grubu *L. casei* ile, L3 grubu ve K3 kontrol grubu *L. rhamnosus* GG ile % 2 oranında aşılanmıştır (Abesinghe vd., 2019). Aşılama sonrası L1, L2 ve L3 gruplarına ayrıca 100 W güçte 5 dk ultrason işlemi uygulanmıştır (Nguyen vd. 2009, Potoroko vd. 2018; Niamah 2019; Akdeniz ve Akalın, 2022). Kültür ilave edilmiş sütler 42°C'de pH 4.75'e ulaşmaya dek inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası elde edilen yoğurt benzeri fermente süt ürünleri oda sıcaklığında 15 dk kadar dinlendirildikten sonra 1 gece 4°C'de buzdolabı koşullarında depolanmıştır. Ertesi gün örneklerde % yağ, % kurumadde, % asitlik ve pH değerleri belirlenerek probiyotik bakteri canlılıklarının

belirlenmesi için uygun besiyerlerine ekimler gerçekleştirilmiştir.

Fermantasyon Süresinin Belirlenmesi

Yoğurt benzeri probiyotik fermente süt örneklerinde inkübasyon başlangıcından itibaren pH 4.75'e düşene kadar geçen süre tespit edilmiştir (Riener vd., 2009).

Fizikokimyasal Analizler

Yoğurt benzeri fermente süt örneklerinin toplam kurumadde miktarı standart gravimetrik yöntem ile (AOAC, 2000), asitlik değeri % laktik asit cinsinden titrasyon yöntemiyle (AOAC, 2000) ve yağ miktarı Gerber yöntemi ile (AOAC, 2002) belirlenmiştir. Örneklerin pH değeri Hanna Instruments, Microprocessor pH-metre (Hanna Instruments, 584 Park East Drive, Woonsocket, RI 02895, ABD) ile ölçülmüştür.

Mikrobiyolojik Analizler

Lactobacillus acidophilus Sayımı

L. acidophilus probiyotik bakteri sayımında MRS-sorbitol agar besiyeri kullanılmıştır. MRS agar 121°C'de 15 dk sterilize edildikten sonra 90 mL MRS agar içerisine, *L. acidophilus* dışındaki mikroorganizmaların gelişimini durdurmak amacıyla 10 mL % 10'luk (w/v) D-sorbitol çözeltisi membran filtreden (0.22 µm) geçirilerek ilave edilmiştir. Analiz yayma plak kültürel sayım yöntemi ile yapılmış ve inkübasyon anaerobik ortamda 37°C'de 72 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Anaerobik koşullar anaerobik kavanoz ve kit (Aerocult A) (Merck, Almanya) kullanılarak sağlanmıştır (Dave ve Shah, 1998).

Lactobacillus casei Sayımı

L. casei sayımı için MRS-Vankomisin Agar (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) besiyeri Tharmaraj ve Shah (2003)'e göre hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan yayma plak kültürel sayım yöntemi ile paralel ekim yapılan petri kapları 37°C'de 72 saat anaerobik inkübasyona bırakılmış ve ardından sayılmıştır. Anaerobik koşulları sağlamak için anaerobik kavanoz ve kit (Aerocult A) (Merck, Almanya) kullanılmıştır.

Lactobacillus rhamnosus GG Sayımı

L. rhamnosus GG probiyotik bakteri sayımında MRS-Vankomisin agar besiyeri kullanılmıştır.

Analiz yayma plak kültürel sayım yöntemi ile yapılmış ve inkübasyon anaerobik ortamda 37°C'de 72 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Anaerobik koşullar anaerobik kavanoz ve kit (Aerocult A) (Merck, Almanya) kullanılarak sağlanmıştır (Tharmaraj ve Shah, 2003).

İstatistiksel Analiz

Çalışmamız iki tekerrür şeklinde yürütülmüş ve analizler iki paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonuçlarına varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve önemli bulunan sonuçlar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile $P < 0.05$ düzeyinde karşılaştırılmıştır. Bu amaçla IBM SPSS versiyon 25 (IBM SPSS, Armonk, NY, ABD) istatistik analiz paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Üretimde kullanılan çiğ sütün ortalama kurumadde, yağ, titrasyon asitliği (% laktik asit) ve pH değerleri sırasıyla % 11.54±0.04, % 3.53±0.06, % 0.17±0.00 ve 6.70±0.00 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçların Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği'nde belirtilen değerler ile uyumlu olduğu görülmüştür (Anonim, 2006).

Yoğurt benzeri fermente süt örneklerinin kurumadde, yağ, pH ve titrasyon asitliği değerleri Çizelge 1'de verilmiştir. Yapılan varyans analizi ve Duncan testi sonucunda hem ultrason uygulamasının hem de kullanılan kültürün üretilen yoğurt benzeri probiyotik fermente süt ürünlerinin kurumadde miktarlarını ve yağ oranlarını önemli ölçüde etkilemediği saptanmıştır ($P > 0.05$).

Gursoy vd. (2016) 800 mL süte 70°C'de 5 dk ısıtma işlemi ile birlikte farklı güçlerde (100, 125 ve 150W) 15 dk ultrason uygulayarak ürettikleri yoğurt içeceklerini geleneksel yöntemle üretilen kontrol grubu yoğurt içecekleri ile kıyasladıklarında çalışma bulgularımız ile paralel olarak ultrason uygulamasının ürünlerin kurumadde ve yağ miktarları üzerinde önemli bir etkisi olmadığını saptamışlardır ($P > 0.05$). Akdeniz ve Akalın (2022) tarafından yapılan çalışmada da ultrason uygulamasının probiyotik yoğurtların kurumadde ve yağ miktarlarını etkilemediği belirtilmiştir.

Çizelge 1. Yoğurt benzeri probiyotik fermente süt ürünlerinin kurumadde (%), yağ (%), asitlik (%) ve pH değerleri

Table 1. Total solid (%), fat (%), acidity (%) and pH values of yogurt-like probiotic fermented milk products

Ürün Product	Kurumadde Miktarı (%) Total Solid (%)	Yağ Miktarı (%) Fat (%)	Laktik Asit Miktarı (%) Lactic Acid (%)	pH pH
K1	13.66±0.35 ^a	3.25±0.07 ^a	0.98±0.02 ^a	4.31±0.01 ^b
K2	13.22±0.27 ^a	3.30±0.14 ^a	0.87±0.002 ^b	4.43±0.01 ^a
K3	13.59±0.30 ^a	3.25±0.07 ^a	0.97±0.003 ^a	4.27±0.02 ^b
L1	13.32±0.15 ^a	3.28±0.04 ^a	0.99±0.04 ^a	4.28±0.04 ^b
L2	13.58±0.03 ^a	3.23±0.11 ^a	0.87±0.01 ^b	4.43±0.01 ^a
L3	13.59±0.06 ^a	3.30±0.00 ^a	0.99±0.02 ^a	4.31±0.01 ^b

K1: *L. acidophilus* ile aşıl原因an kontrol örneği, K2: *L. casei* ile aşıl原因an kontrol örneği, K3: *L. rhamnosus* GG ile aşıl原因an kontrol örneği, L1: 400W güçte 15 dk ultrason uygulanan ve *L. acidophilus* ilavesi sonrası 100W güçte 5 dk ultrason uygulanarak üretilen probiyotik fermente süt ürünü, L2: 400W güçte 15 dk ultrason uygulanan ve *L. casei* ilavesi sonrası 100W güçte 5 dk ultrason uygulanarak üretilen probiyotik fermente süt ürünü, L3: 400W güçte 15 dk ultrason uygulanan ve *L. rhamnosus* GG ilavesi sonrası 100W güçte 5 dk ultrason uygulanarak üretilen probiyotik fermente süt ürünü

^{a-b}: Aynı sütündeki farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)

K1: Control sample inoculated with *L. acidophilus*, K2: Control sample inoculated with *L. casei*, K3: Control sample inoculated with *L. rhamnosus* GG, L1: Probiotic fermented milk product produced by ultrasonication at 400W for 15 min, and after addition of *L. acidophilus*, ultrasonication at 100W for 5 min, L2: Probiotic fermented milk product produced by ultrasonication at 400W for 15 min, and after addition of *L. casei*, ultrasonication at 100W for 5 min, L3: Probiotic fermented milk product produced by ultrasonication at 400W for 15 min, and after addition of *L. rhamnosus* GG, ultrasonication at 100W for 5 min

^{a-b}: The difference between the means indicated by different letters in the same column is significant ($P<0.05$)

L. casei ile aşıl原因an K2 ve L2 yoğurt benzeri probiyotik fermente süt ürünlerinin diğer ürünlere kıyasla daha yüksek pH ve daha düşük asitlik değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Ultrason uygulamasının ise yoğurtların pH ve asitlik değerlerini kontrol örneklerine kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede etkilemediği görülmüştür ($P>0.05$). Çalışma bulgularımıza paralel olarak Gursoy vd. (2016) tarafından yoğurt içeceklerinde yapılan çalışmada ultrason uygulamasının örneklerin pH ve asitlik değerlerini önemli derecede etkilemediği saptanmıştır. Guimaraes vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada da aynı şekilde ultrason uygulamasının peyniraltı suyu içeceklerinin pH'sını önemli derecede etkilemediği bulunmuştur. Erkaya vd. (2015) de 35 kHz frekansta farklı sıcaklık ve sürelerde ultrason uygulamasının ayranların % laktik asit miktarını önemli derecede etkilemediğini belirtmişlerdir. Bu sonucun, ultrason

uygulamasının enzimler üzerindeki etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ultrasonun enzimler üzerindeki etkisi henüz tam olarak çözülememiştir ve bu konuda çalışmalar yapılmaya devam edilmektedir.

Fermantasyon Süresi

Yoğurt benzeri probiyotik fermente süt ürünlerinin kültür ilave edilip inkübatöre konulma zamanından pH 4.75'e düşene kadar geçen fermantasyon süresi Çizelge 2'de verilmiştir. *L. acidophilus* ile aşıl原因an örneklerin fermantasyon süresi diğer probiyotik kültürlerle aşıl原因an örneklerden daha kısa olmuştur. En uzun fermantasyon süresi *L. rhamnosus* GG ile aşıl原因an örneklerde gözlenmiştir. Sun vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada da *L. rhamnosus* GG tek başına kullanıldığında fermantasyon süresinin uzun olduğu bildirilmiştir.

Çizelge 2. Yoğurt benzeri probiyotik fermente süt ürünlerinin fermentasyon süresi
Table 2. Fermentation time of yogurt-like probiotic fermented milk products

Probiyotik Bakteri Türü <i>Probiotic Bacteria Species</i>	Ultrason Uygulaması <i>Ultrasound Application</i>	Fermentasyon süresi (dk) <i>Fermentation time (min)</i>
<i>L. acidophilus</i>	K1	63.50±2.12 ^d
	L1	46.00±4.24 ^e
<i>L. casei</i>	K2	677.00±5.66 ^b
	L2	656.50±7.78 ^c
<i>L. rhamnosus</i> GG	K3	1388.50±4.95 ^a
	L3	1394.50±6.36 ^a

K1: *L. acidophilus* ile aşılanan kontrol örneği, K2: *L. casei* ile aşılanan kontrol örneği, K3: *L. rhamnosus* GG ile aşılanan kontrol örneği, L1: 400W güçte 15 dk ultrason uygulanan ve *L. acidophilus* ilavesi sonrası 100W güçte 5 dk ultrason uygulanarak üretilen probiyotik fermente süt ürünü, L2: 400W güçte 15 dk ultrason uygulanan ve *L. casei* ilavesi sonrası 100W güçte 5 dk ultrason uygulanarak üretilen probiyotik fermente süt ürünü, L3: 400W güçte 15 dk ultrason uygulanan ve *L. rhamnosus* GG ilavesi sonrası 100W güçte 5 dk ultrason uygulanarak üretilen probiyotik fermente süt ürünü

^{a-e}: Aynı sütündeki farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)

K1: Control sample inoculated with *L. acidophilus*, K2: Control sample inoculated with *L. casei*, K3: Control sample inoculated with *L. rhamnosus* GG, L1: Probiotic fermented milk product produced by ultrasonication at 400W for 15 min, and after addition of *L. acidophilus*, ultrasonication at 100W for 5 min, L2: Probiotic fermented milk product produced by ultrasonication at 400W for 15 min, and after addition of *L. casei*, ultrasonication at 100W for 5 min, L3: Probiotic fermented milk product produced by ultrasonication at 400W for 15 min, and after addition of *L. rhamnosus* GG, ultrasonication at 100W for 5 min

^{a-e}: The difference between the means indicated by different letters in the same column is significant ($P<0.05$)

Ultrason uygulaması *L. rhamnosus* GG ile aşılanan örneklerde fermentasyon süresinde önemli bir farklılık ($P>0.05$) yaratmazken, *L. acidophilus* ve *L. casei* ile aşılanan örneklerde kontrollerine göre fermentasyon süresini istatistiksel olarak önemli derecede kısaltmıştır ($P<0.05$). Bu konuda yapılan diğer çalışmalarda da bulgularımız ile paralel olarak ultrason uygulamasının fermentasyon süresini kısaltmada etkili olduğu belirtilmektedir. Ultrason işleminin kefirin fermentasyon süresini kısalttığını (Shimada vd., 2004), bifidobakterilerin fermentatif aktivitesini suşa bağlı olarak arttırdığını (Nguyen vd.,2009), *Lactobacillus casei* subsp.*casei* ATTC 39392'nin fermentasyon sürecini geliştirdiğini (Dahroud vd., 2016) bildiren çalışmalar mevcuttur. Wu vd. (2001) tarafından yapılan çalışmada ise kültür ilavesinden önce uygulanan ultrason işleminin fermentasyon süresini kısaltmada etkili olmadığı, bunun yanı sıra kültür ilavesinden sonraki ultrason işleminin ise

fermentasyon süresinde 30 dk'ya kadar azalma sağladığı belirtilmiştir.

Ultrasonun fermentasyon işlemi üzerindeki bu etkisi fermentatif enzimlerin aktivitesini teşvik etmesine bağlanmaktadır (Wu vd., 2001). Ultrason uygulaması ile probiyotik kültürlerin aktivitesi artırılmakta ve sonuç olarak daha yüksek canlılık, daha hızlı asit gelişimi ve fermentasyon süresinde azalma sağlanmaktadır (Guimaraes vd. 2019). Ayrıca ultrason uygulaması ile probiyotik bakterilerin membran geçirgenliği artmakta ve böylece laktoz hidrolizinden sorumlu olan hücre içi enzim β -galaktosidaz hücre dışına salınmaktadır. Bunun sonucunda da laktoz hidrolizi artmakta ve fermentasyon süresi kısaltılmaktadır (Kreft ve Jelen, 2000; Nguyen vd., 2009; Nguyen vd., 2012; Abesinghe vd., 2019).

Probiyotik Bakteri Canlılığı

Yoğurt benzeri probiyotik fermente süt örneklerinin *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. rhamnosus* GG sayıları Çizelge 3'te verilmiştir. Örnekler arasında *L. rhamnosus* GG ile aşılana fermente süt ürünleri daha yüksek bakteri canlılığına sahip olup, 9.91 ± 0.04 log kob/g bakteri sayısı ile ultrason uygulanan L3 grubu en yüksek değere sahiptir. Yapılan varyans analizi ve Duncan testi

sonucunda ultrason uygulamasının örneklerin probiyotik bakteri sayıları üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Ultrason uygulanan örneklerin (L1, L2, L3) ultrason uygulanmayan kontrol örneklerine (K1, K2, K3) kıyasla daha yüksek bakteri canlılığına sahip olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

Çizelge 3. Yoğurt benzeri fermente süt ürünlerinde farklı laktobasil türlerinin probiyotik bakteri sayıları (log kob/g)

Probiyotik Bakteri Türü <i>Probiotic Bacteria Species</i>	Ultrason Uygulaması <i>Ultrasound Application</i>	Probiyotik Bakteri Canlılığı (log kob/g) <i>Probiotic Bacteria Viability (log cfu/g)</i>
<i>L. acidophilus</i>	K1	8.99 ± 0.02^e
	L1	9.36 ± 0.02^e
<i>L. casei</i>	K2	8.97 ± 0.04^e
	L2	9.16 ± 0.06^d
<i>L. rhamnosus</i> GG	K3	9.54 ± 0.11^b
	L3	9.91 ± 0.04^a

K1: *L. acidophilus* ile aşılana kontrol örneği, K2: *L. casei* ile aşılana kontrol örneği, K3: *L. rhamnosus* GG ile aşılana kontrol örneği, L1: 400W güçte 15 dk ultrason uygulanan ve *L. acidophilus* ilavesi sonrası 100W güçte 5 dk ultrason uygulanarak üretilen probiyotik fermente süt ürünü, L2: 400W güçte 15 dk ultrason uygulanan ve *L. casei* ilavesi sonrası 100W güçte 5 dk ultrason uygulanarak üretilen probiyotik fermente süt ürünü, L3: 400W güçte 15 dk ultrason uygulanan ve *L. rhamnosus* GG ilavesi sonrası 100W güçte 5 dk ultrason uygulanarak üretilen probiyotik fermente süt ürünü

^{a-c}: Aynı sütündeki farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)

K1: Control sample inoculated with *L. acidophilus*, K2: Control sample inoculated with *L. casei*, K3: Control sample inoculated with *L. rhamnosus* GG, L1: Probiotic fermented milk product produced by ultrasonication at 400W for 15 min, and after addition of *L. acidophilus*, ultrasonication at 100W for 5 min, L2: Probiotic fermented milk product produced by ultrasonication at 400W for 15 min, and after addition of *L. casei*, ultrasonication at 100W for 5 min, L3: Probiotic fermented milk product produced by ultrasonication at 400W for 15 min, and after addition of *L. rhamnosus* GG, ultrasonication at 100W for 5 min

^{a-c}: The difference between the means indicated by different letters in the same column is significant ($P < 0.05$)

Ultrason uygulaması ile probiyotik bakterilerin membran geçirgenliği arttığından ultrason uygulaması metabolik süreçler üzerinde önemli etkiye sahiptir. Çalışma bulgularımız ile paralel olarak, yapılan diğer çalışmalar göstermektedir ki ultrason uygulaması bazı laktobasil suşlarının (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactocaseibacillus casei*, *Lactococcus lactis* spp *cremoris*, *Lactococcus lactis* spp *lactis*) ve bazı bifidobakteri suşlarının

(*Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*) gelişimini olumlu etkilemektedir (Mortazavi ve Tabatabaie, 2008; Nguyen vd., 2009; Ewe vd., 2012; Niamah, 2019). Ultrasonun bu etkisi probiyotik bakterilerin membran geçirgenliğini arttırmasına atfedilmektedir. Membran geçirgenliğindeki artışa bağlı olarak bakterilerin gelişmesi için gerekli olan besinlerin hücre içine taşınması ve aynı zamanda hücre içindeki artıkların hücre dışına taşınması kolaylaşmaktadır.

Bununla birlikte β -galaktosidaz gibi hücre içi enzimlerin hücre dışına çıkması sağlanarak hem laktoz hidrolizi hızlanmakta hem de gelişme faktörü olarak nitelendirilen bazı bileşenleri açığa çıkması sağlanmaktadır. Böylece probiyotik bakterilerin kullanabileceği besin miktarı arttığından gelişimleri teşvik edilmektedir (Nguyen vd., 2009; Nguyen vd., 2012; Guimaraes vd., 2019).

SONUÇ

Bu çalışma, ultrason uygulamasının yoğurt benzeri probiyotik fermente süt ürünleri üretiminde kullanım potansiyelinin yüksek olduğunu ve probiyotik bakteri canlılığını arttırmada umut verici olduğunu göstermiştir. 15 dk boyunca 400 W uygulanan ve probiyotik kültür ilavesi sonrasında 5 dk boyunca 100 W uygulanan ultrason işlemi, probiyotik fermente süt ürünlerinde kontrol örneklerine kıyasla *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. rhamnosus* GG sayılarını arttırmıştır. Ayrıca *L. acidophilus* ve *L. casei* kültürleri ile üretilen ürünlerde fermentasyon süresini kısaltmıştır. Güvenli, basit, hızlı, enerji tasarrufu sağlayan ve toksik etkisi olmayan ultrason uygulamaları aynı zamanda çevre dostu olduğundan tüketici açısından da avantaj sağlamaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarın bu makale ile ilgili olarak üçüncü şahıslarla bir çıkar çatışması yoktur.

YAZAR KATKISI

Araştırma, kurgulama, metodoloji, analizlerin gerçekleştirilmesi, verilerin toplanması ve değerlendirilmesi, taslak hazırlama, yazma, gözden geçirme işlemlerinin tamamı Vildan Akdeniz tarafından gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

Abesinghe, A.M.N.L., Islam, N., Vidanarachchi, J.K., Prakash, S., Silva, K.F.S.T., Karim, M.A. (2019). Effects of ultrasound on the fermentation profile of fermented milk products incorporated with lactic acid bacteria, *International Dairy Journal*, 90: 1-14. doi:10.1016/j.idairyj.2018.10.006.

Akalın, A.S., Erisir, D. (2008). Effects of inulin and oligofructose on the rheological

characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. *Journal of Food Science*, 73(4): 184–188, doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00728.x.

Akdeniz, V., Akalın, A.S. (2017). Ultrason uygulamasının süt ürünlerinde homojenizasyon, jel yapısı, viskozite ve su tutma kapasitesi üzerine etkisi, *GIDA*, 42(6): 743-53, doi:10.15237/gida.GD17062.

Akdeniz, V., Akalın, A.S. (2022). Power ultrasound affect on physicochemical, rheological and sensory characteristics of probiotic yoghurts. *International Dairy Journal*, In press, doi:10.1016/j.idairyj.2022.105530.

Anonim (2006). Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ, No: 2006/38, Ankara.

AOAC (2000). Official Methods of Analysis AOAC INTERNATIONAL. 17th Edition, Washington DC, USA.

AOAC (2002). Official Methods of Analysis AOAC INTERNATIONAL. Fat content of raw and pasteurized whole milk: method 2000.18, 33.2.27A, Gaithersburg, USA.

Arzeni, C., Martinez, K., Zema, P., Arias, A., Perez, O.E., Pilosof, A.M.R. (2012). Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. *Journal of Food Engineering*, 108: 463–472. doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.08.018.

Ashokkumar, M. (2015). Applications of ultrasound in food and bioprocessing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 25: 17–23. doi:10.1016/j.ultsonch.2014.08.012.

Bakr, S.A. (2015). The potential applications of probiotics on dairy and non-dairy foods focusing on viability during storage. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4: 423–431. doi:10.1016/j.bcab.2015.09.010.

Dahroud, B.D., Mokarram, R.R., Khiabani, M.S., Hamishehkar, E., Bialvaei, A.Z., Yousefi, M., Kafil, H.S. (2016). Low intensity ultrasound increases the fermentation efficiency of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATTC 39392,

- International Journal of Biological Macromolecules*, 86: 462-67. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.01.103.
- Dave, R.I., Shah, N.P. (1998). Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt, *Journal of Dairy Science*, 81: 2804-2816.
- Dinkci, N., Akdeniz, V., Akalin, A.S. (2019). Survival of probiotics in functional foods during shelf life. In *Food Quality and Shelf Life*, 1st ed., Galanakis, C.M. (Ed.), Academic Press: Cambridge, MA, USA, pp. 201–226.
- Erkaya, T., Baslar, M., Sengül, M., Ertugay, M.F. (2015). Effect of thermosonication on physicochemical, microbiological and sensorial characteristics of ayran during storage, *Ultrasonics Sonochemistry*, 23: 406-412. doi:10.1016/j.ultsonch.2014.08.009.
- Ewe, J., Abdullah, W.W., Bhat, R., Karim, A., Liong, M., (2012). Enhanced growth of lactobacilli and bioconversion of isoflavones in biotin-supplemented soymilk upon ultrasound-treatment, *Ultrasonics Sonochemistry*, 19: 160-173, doi:10.1016/j.ultsonch.2012.01.003.
- Foysal, M.J., Fotedar, R., Siddik, M.A.B., Tay, A. (2020). *Lactobacillus acidophilus* and *L. plantarum* improve health status, modulate gut microbiota and innate immune response of marron (*Cherax cainii*). *Scientific Reports*, 10:5916, doi:10.1038/s41598-020-62655-y.
- Goldin, B. R., Gorbach, S. L., Saxelin, M., Barakat, S., Gualtieri, L., Salminen, S. (1992). Survival of *Lactobacillus* species (strain GG) in human gastrointestinal tract. *Digestive Diseases and Sciences*, 37:121–128.
- Guimaraes, J.T., Silva, E.K., Ranadheera, C.S., Moraes, J., Raices, R.S.L., Silva, M.C., Ferreira, M.S., Freitas, M.Q., Meireles, M.A.A., Cruz, A.G. (2019). Effect of high-intensity ultrasound on the nutritional profile and volatile compounds of a prebiotic soursop whey beverage, *Ultrasonics Sonochemistry*, 55: 157–164. doi:10.1016/j.ultsonch.2019.05.004.
- Gursoy, O., Yilmaz, Y., Gokce, O., Ertan, K. (2016). Effect of ultrasound power on physicochemical and rheological properties of yoghurt drink produced with thermosonicated milk, *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(4): 235-241. doi:10.9755/ejfa.2015-09-719.
- Higuera-Barraza, O.A., Del Toro-Sanchez, C.L., Ruiz-Cruz, S., Márquez-Ríos, E. (2016). Effects of high-energy ultrasound on the functional properties of proteins. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31: 558–562. doi:10.1016/j.ultsonch.2016.02.007.
- Jia, R., H. Chen, H. Chen, W. Ding. (2016). Effects of fermentation with *Lactobacillus rhamnosus* GG on product quality and fatty acids of goat milk yogurt. *Journal of Dairy Science*, 99:221–227, doi:10.3168/jds.2015-10114.
- Kneifel, W., Bonaparte, C. (2003). Acidophilus milk. In *Encyclopedia of food sciences and nutrition*, Caballero, B. (Ed.), Elsevier Applied Sciences Publ., UK, pp. 3-7.
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., Lee, D.U. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing, *Trends in Food Science and Technology*, 15: 261–266, doi:10.1016/j.tifs.2003.12.001.
- Kopeloff, N., Cheney, C. (1922). Studies on the therapeutic effect of Bacillus Acidophilus and lactose. *JAMA*, 79(8): 609–611, doi:10.1001/jama.1922.02640080011004.
- Kreft, M.E., Jelen, P. (2000). Stability and Activity of β -Galactosidase in Sonicated Cultures of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 11842 as Affected by Temperature and Ionic Environments, *Journal of Food Science*, 65(8): 1364–1368.
- Lacroix, C., Yildirim, S. (2007). Fermentation technologies for the production of probiotics with high viability and functionality. *Current Opinion in Biotechnology*, 18:176–183, doi:10.1016/j.copbio.2007.02.002.
- Lentacker, I., De Cock, I., Deckers, R., De Smedt, S., Moonen, C. (2014). Understanding ultrasound induced sonoporation: Definitions and underlying mechanisms, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 72: 49-64, doi:10.1016/j.addr.2013.11.008.
- Matsuzaki, T., Takagi, A., Ikemura, H., Matsuguchi, T., Yokokura, T. (2007). Intestinal

- microflora: probiotics and autoimmunity. *The Journal of Nutrition*, 137(3): 798-802, doi:10.1093/jn/137.3.798S.
- Mohammadi, V., Ghasemi-Varnamkhasti, M., Ebrahimi, R., Abbasvali, M. (2014). Ultrasonic techniques for the milk production industry, *Measurement*, 58: 93–102, doi:10.1016/j.measurement.2014.08.022.
- Mortazavi, A., Tabatabaie, F. (2008). Study of ice cream freezing process after treatment with ultrasound, *World Applied Sciences Journal*, 4(2): 188–190.
- Nguyen H.T, Truong, D.H., Kouhoude, S., Ly, S., Razafindralambo, H., Delvigne, F. (2016). Biochemical Engineering Approaches for Increasing Viability and Functionality of Probiotic Bacteria. *International Journal of Moluculer Sciences*, 17:867, doi:10.3390/ijms17060867.
- Nguyen, T.M.P., Lee, Y.K., Zhou, W. (2009). Stimulating fermentative activities of bifidobacteria in milk by high intensity ultrasound, *International Dairy Journal*, 19: 410–416, doi:10.1016/j.idairyj.2009.02.004.
- Nguyen, T.M.P., Lee, Y.K., Zhou, W. (2012). Effect of high intensity ultrasound on carbohydrate metabolism of bifidobacteria in milk fermentation, *Food Chemistry*, 130: 866-74, doi:10.1016/j.foodchem.2011.07.108.
- Niamah, A.K. (2019). Ultrasound treatment (low frequency) effects on probiotic bacteria growth in fermented milk. *Future of Food: Journal on Food, Agriculture and Society* Article Number 103, doi:10.17170/kobra-20190709592.
- Pitt, W.G., Ross, S.A. (2003). Ultrasound Increases the Rate of Bacterial Cell Growth, *Biotechnology Progress*, 19: 1038-1044.
- Potoroko I., Kalinina, I., Botvinnikova, V., Krasulya, O., Fatkullin, R., Bagale, U., Sonawanw, S.H. (2018). Ultrasound effects based on simulation of milk processing properties, *Ultrasonics Sonochemistry*, 48: 463-472. doi:10.1016/j.ultsonch.2018.06.019.
- Riener, J., Noci, F., Cronin, D.A., Morgan, D.J., Lyng, J.G. (2009). The effect of thermosonication of milk on selected physicochemical and microstructural properties of yogurt gels during fermentation. *Food Chemistry*, 114: 905–911, doi:10.1016/j.foodchem.2008.10.037.
- Ryan, J., Hutchings, S.C., Fang, Z., Bandara, N., Gamlath, S., Ajlouni, S., Ranadheera, C.S. (2020). Microbial, physico-chemical and sensory characteristics of mango juice-enriched probiotic dairy drinks. *International Journal of Dairy Technology*, 73(1): 182-190, doi: 10.1111/1471-0307.12630.
- Sarkar, S. (2010). Approaches for enhancing the viability of probiotics: a review. *British Food Journal*, 112: 329–342, doi:10.1108/00070701011034376.
- Shimada, T., Ohdaira, E., Masuzawa, N. (2004). Effect of ultrasonic frequency on lactic acid fermentation promotion by ultrasonic irradiation. *Japanese Journal of Applied Physics*, 43(5S): 2831. doi:10.1143/JJAP.43.2831.
- Shori, A.B. (2016). Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: An overview based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience*, 13(1): 1–8. doi: 10.1016/j.fbio.2015.11.001.
- Sömer, V.F., Akpınar, D., Başyigit Kılıç, G. (2012). *Lactobacillus casei*'nin sağlık üzerine etkileri ve gıda endüstrisinde kullanımı. *GIDA*, 37(3): 165-172.
- Srinivasan R., Meyer, R. (2006). Clinical safety of *Lactobacillus casei* strain shirota as a probiotic in critically ill children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 42(2): 171-173, doi:10.1097/01.mpg.0000189335.62397.cf.
- Sun, J., Chen, H., Qiao, Y., Liu, G., Leng, C., Zhang, Y. Lv, X., Feng, Z. (2019). The nutrient requirements of *Lactobacillus rhamnosus* GG and their application to fermented milk. *Journal of Dairy Science*, 102: 5971-5978, doi:10.3168/jds.2018-15834.
- Tharmaraj, N., Shah, N.P. (2003). Selective Enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* and Propionibacteria.

Journal of Dairy Science, 86: 2288-2296, doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73821-1.

Wendakoon, C.N., Nakano, T., Remillard, S.C., Ozimek, L. (2007). Antimutagenic activity of *Lactobacillus casei* ADA 03 and its cell wall components. *Milchwissenschaft*, 62(3): 320-323.

Wu, H., Hulbert, G.J., Mount, J.R. (2001). Effects of ultrasound on milk homogenization and

fermentation with yoghurt starter, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1(3): 211–218.

Wu, H., Nyborg, W.L. (2008). Ultrasound, cavitation bubbles and their interaction with cells, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60:1103–1116.