



The Effect of Clove on Microbiological, Chemical and Sensory Properties of Probiotic Yogurt

Ayşe GÜNEŞ BAYIR Mehmet Gültekin BİLGİN

Bezmialem Vakıf University, Faculty of Health Sciences, Nutrition and Dietetics Department, Istanbul, Turkey

Received: 11.04.2019

Accepted: 20.07.2019

ABSTRACT

In this study, the effects of clove added in different concentrations to the probiotic yogurts on some microbiological, chemical and sensory properties of yogurts were investigated. Probiotic yogurts were produced using yogurt and probiotic cultures. Four groups were established, including a control group and groups clove 1, clove 2 and clove 3, and 0%, 0.1%, 0.3% and 1% powdered clove were added to the groups, respectively. Gas chromatographic analysis of the clove used in the study was performed. The addition of clove to probiotic yogurt showed antibacterial activity on *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus acidophilus* while clove depending on its concentration was found to support bacterial growth of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* ($P < 0.05$). In addition, pH, fat-free dry matter and fat content of yogurts were affected depending on the clove concentrations. When the sensory qualities were scored such as appearance, consistency, smell and taste of yogurts, the scores of cloves-added (0.1% and 0.3%) probiotic yogurts were closer to the control group. These results have shown that the clove added probiotic yogurt increases the microbial and chemical quality of the product, and but it had a limited positive effect on its sensory properties.

Keywords: Clove, Probiotics, Yogurt, Yogurt bacteria

ÖZ

Probiyotik Yoğurdun Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Karanfilin Etkisi

Bu çalışmada, probiyotik yoğurda katılan farklı konsantrasyonlardaki karanfilin, yoğurdun bazı mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşsal özellikleri üzerine etkisi araştırıldı. Çalışmada yoğurt ve probiyotik kültürler kullanılarak probiyotik yoğurtlar üretildi. Gruplandırma kontrol, karanfil 1, karanfil 2 ve karanfil 3 olmak üzere 4 grup şeklinde yapıldı ve gruplara sırasıyla %0, %0.1, %0.3 ve %1 toz haline getirilmiş karanfil ilave edildi. Çalışmada kullanılan karanfilin gaz kromatografik analizi yapıldı. Probiyotik yoğurda karanfil ilavesinin *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus acidophilus* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* üzerinde ise karanfilin konsantrasyonuna bağlı olarak bakteriyel gelişimi destekleyici etkide bulunduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Ayrıca, karanfil konsantrasyonuna bağlı olarak yoğurtların pH, yağsız kuru madde ve yağ miktarları da etkilenmiştir. Yoğurtların görünüşü, kıvamı, kokusu ve tadı gibi duyuşsal özellikleri puanlandırıldığında karanfil (%0.1 ve %0.3) katkılı probiyotik yoğurtların puanları kontrol grubuna yakın çıkmıştır. Bu sonuçlar, probiyotik yoğurda katılan karanfilin, ürünün mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesini artırdığını, duyuşsal özellikler üzerine ise sınırlı düzeyde olumlu etkisinin olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Karanfil, Probiyotikler, Yoğurt, Yoğurt bakterileri

GİRİŞ

Fonksiyonel besinler; nutrasötik, besin destekleri, tasarlanmış gıdalar, özel beslenme amaçlı besinler veya farmakolojik besinler olarak da adlandırılmaktadır (Kıyak ve ark. 2014). Fonksiyonel besinler, bazı hastalıkların oluşma riskini azaltarak sağlığa olumlu etki etmek suretiyle optimal sağlık koşullarını oluşturmaya yardımcı olmaktadır (Granato ve ark. 2017). Fonksiyonel

besinlerin, başta kardiyovasküler hastalıklar ve kanser riskini azaltma olmak üzere gastrointestinal sistemi düzenleme, üriner sistemin sağlığını koruma, kan basıncını düşürme ve menopoz semptomlarını azaltma gibi çeşitli yararlarının bulunduğu tespit edilmiştir (Begum ve ark. 2017). Probiyotik, klasik olarak konakçının barsak yollarını olumlu yönde etkileyen 'yaşayan bir mikrobiyal besin takviyesi' olarak tanımlanmaktadır (Roberfroid

2000). Probiyotik bakteriler bağışıklık sistemini güçlendirmekte, fekal enzimler ile mutajeniteyi azaltıcı, kolesterolü düşürücü, hastalık riskini azaltıcı ve laktoz sindirimini artırarak laktoz intolerans semptomlarını azaltıcı etkiler göstermektedirler. Antimikrobiyal, antimutajenik ve antikarsinojenik aktivitelerinden dolayı, diyare, atopik dermatit, nekrotizan enterokolit, psödomembranöz kolit, kronik karaciğer hastalığı, alerjik hastalıklar ve gıda allerjileri gibi problemlerin tedavisinde probiyotikler önerilmektedir (Kopp-Hoolihan 2001).

Yoğurt, sağlığın korunması ve iyileştirilmesinde önemli bir yere sahiptir. Bununla birlikte klasik yoğurt tüketildiğinde yoğurdun starter kültürlerinin çoğu bağırsaklardaki alkali ortam nedeniyle uzun süreli yaşayamaz (Sanches ve ark. 2009). Bu durum, yoğurdun profilaktik kullanımını sınırlamış ve farklı probiyotik formülasyonları ile farklı yoğurt üretimlerinin araştırılmasına yol açmıştır. Bir besinin probiyotik ürün olmasını tıbbi aktivitesi, aktif hücre sayısı veya canlı hücrelerinin toplam sayısı etkilemektedir (Begum ve ark. 2017).

Probiyotik gıda için en az 1.0×10^6 kob/g yaşayan probiyotik mikroorganizma gereklidir (26 Ocak 2017 tarihli Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Yönetmeliği). Son yıllarda en çok da *Lactobacillus* ve *Bifidobakterilerin* bir arada olduğu probiyotik kültürler yoğurda kullanılmakta ve bu da yoğurdun terapötik ve profilaktik değerini artırmaktadır (Lourens-Hattingh ve Viljoen 2001).

Karanfil baharatı (*Syzygium aromaticum*), *Myrtaceae* familyasına ait bir ağacın kurutulmuş tomurcuğu olup antik çağlardan beri birçok hastalık için tamamlayıcı bir tedavi olarak kullanılmıştır (Mishra ve Singh 2013). Yapılan bir araştırmada, genel olarak antioksidan, antimikrobiyal, insektisit, antidiyabetik, antiinflamatuvar, anti-trombotik ve analjezik etkileri bildirilmiştir (Milind ve Deepa 2011).

Karanfil yağının veya ekstraktının antibiyotiklere dirençli bakteriler ve patojen bakteriler üzerine antibakteriyel etkileri ile ilgili çalışmalar (Nascimento ve ark. 2000; Mytle ve ark. 2006; Cava ve ark. 2007) bulunmakla birlikte probiyotik bakteriler üzerine etkisiyle ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Diğer yandan, süt ve yoğurdun tamponlama kapasitesinin karanfilin asitliliğini nötralize etmesiyle, karanfilin *Staphylococcus aureus* üzerinde antibakteriyel etki göstermediği, ancak süt ve yoğurdun duyu kalitesine olumlu etkisi olduğu bildirilmiştir (Hammad 2016).

Bu çalışmada; farklı konsantrasyonlarda karanfil ile zenginleştirilmiş probiyotik yoğurtlar üretilip, karanfilin bu yoğurtların mikrobiyolojik, kimyasal ve duyu özellikleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Karanfil ve GC-MS analizi

Çalışmada kullanılan karanfil, Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Fitoterapi Merkezi'nden (İstanbul, Türkiye) elde edilmiş ve yine aynı merkezde karanfil toz haline getirilip GC-MS (Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi) (Agilent 5977A, USA) yöntemiyle karanfilin kimyasal bileşenleri araştırılmıştır.

Kullanılan GC-MS sisteminin koşulları şöyledir:

- enjeksiyon hacmi (5 µl),
- giriş sıcaklığı (250 °C),
- split oranı (50:1),
- kolon (DB-WAX 60 m x 0,25 x 0,25),
- akış (1 mL/dk He) ve

- sıcaklık programı (10 °C/dk sıcaklık artışı, 70 °C ve 5 dk bekleme süresi, 230 °C ve 29 dk bekleme süresi).

Yoğurdun hazırlanışı

Probiyotik yoğurt yapımında kullanılan pastörize inek sütleri (%3 yağ) marketten satın alınmıştır (Dost süt, Türkiye). Normal yoğurt ve probiyotik yoğurt starter kültürleri (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*) ticari olarak elde edilmiştir (Maysa Gıda, Adana, Türkiye).

Pastörize süt, 45 °C'ye kadar ısıtılıp starter kültür ve farklı konsantrasyonlarda karanfil (%0 Kontrol grubu, %0.1 karanfil 1 grubu, %0.3 karanfil 2 grubu ve %1 karanfil 3 grubu) ilave edildi. Her bir grup 3 kere tekrarlandı. Ürünlere katılan starter kültür miktarı ve inkübasyon sıcaklığı kültür temin edilen firmanın önerisi doğrultusunda ayarlanmıştır. Buna göre, 45 °C'ye kadar ısıtılan 1/2 litre pastörize süte 0.5 g probiyotik yoğurt mayası (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*) ve 0.25 g yoğurt mayası (*Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) kültürleri tartılarak süte karıştırılmıştır. Kültürler süte karıştırılıp eritildikten sonra, sütler yoğurda dönüşmek üzere 45 °C'de 6 saat inkübe edilmişlerdir. Probiyotik yoğurtlar inkübasyon sonrasında +4 °C'de 24 saat olgunlaştırılıp mikrobiyolojik, kimyasal ve duyu analizleri yapılmıştır.

Mikrobiyolojik Analizler

Analizlerde kullanılan pepton, MRS (De Man Rogosa and Sharpe), M17, TOS-MUP (Transgalactosylated oligosaccharidesmupirocin lithium salt), MRS-CC (MRS-clindamycin-ciprofloxacin) besiyerleri ticari olarak elde edildi (Merck, Türkiye). Bu besiyerleri sırasıyla, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* bakterilerinin tanısı için kullanıldı. Probiyotik yoğurtların mikrobiyolojik analizleri IDF ve ISO standartlarına göre yapıldı (ISO ve IDF 2006; 2010).

Her bir deneysel gruptan aseptik şartlarda tartılan 10 g yoğurt, steril poşetlerde (Steril Stomacher Bag, VWR, Türkiye) 90 mL %0.1'lik peptonlu su ile dilüe edilip Stomacher'de (VWR, İtalya) homojenizasyonu sağlandı. Böylece, ilk dilüsyon (10^{-1}) elde edilip bundan da 10^{-7} 'ye kadar dilüsyon serisi hazırlandı. Her bir dilüsyondan 100 µL alınıp yukarıda adı geçen besiyerlerine ekildi (Süle ve ark. 2014).

Ekilen MRS, MRS-CC ve TOS-MUP besiyerleri 72 saat boyunca anaerobik ortamda 37 °C'de inkübe edildi (Memmert, IN 110, Almanya). Anaerobik şartlar, anaerobik jar ve ilgili kitleri kullanılarak sağlandı (Merck, Darmstadt, Almanya). M17 besiyerleri ekim sonrası aerobik ortamda 45 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında besiyerlerinin değerlendirilmesinde koloni sayacı (Interscience, Scan 100, Fransa) kullanıldı.

MRS besiyerinde *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, M17 besiyerinde *Streptococcus thermophilus*, TOS-MUP besiyerinde *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* ve MRS-CC besiyerinde *Lactobacillus acidophilus* bakterilerinin tanısı gerçekleştirildi. Sadece 25-250 koloni bulunan besiyerleri değerlendirmeye alındı (Süle ve ark. 2014). Örneklerdeki bakteri sayıları kob/g olarak hesaplandı.

Kimyasal Analizler

Yağın Kantitatif Analizi: Her bir yoğurt numunesinden 50 g hassas terazide (Ohaus Company, USA) tartılıp 5 mL

amonyak (Merck %28-30) ilave edilip karıştırıldı. Her bir numune iki kere çalışıldı. Bunun için 2 bütirometre (Funke Gerber, %0.1'lik hassasiyet) alındı ve her birine önce 10'ar mL sülfürik asit (Merck %90, d = 1.82) ve sonra 11'er mL hazırlanan yoğurt-amonyak karışımından konuldu. Üzerine 1'er mL N-amil alkol (Merck %100, d = 0.815) ilave edildi. Bütirometreler 5 dk boyunca Gerber santrifüjünde (Funke Gerber Almanya, T = 65 °C, 1350 rpm) santrifüj edildi. Bütirometreler santrifüj işleminden sonra 63 °C su banyosunda (J.P.Selecta, İspanya) 10 dk bekletilip 5 dk daha santrifüj edildi. Sonuçlar bütirometre taksimatından okunup kütlece yüzde cinsinden yağ oranı hesaplanmıştır (Tekinşen ve ark. 2002).

Yağsız Kuru Madde Analizi: Kapaklı petri kutularına bir miktar deniz kumu (Merck, Türkiye) eklenerek etüvde (Binder, ED 115, Almanya) 103 °C'de kurutulması sonrasında bir desikatörde soğutuldu ve hassas terazide (Ohaus, USA) tartıldı. Homojenleştirilmiş yoğurt numunesinden 3 g petri kutusuna aktarılıp etüvde 103 °C'de 2 saat süreyle kurutuldu ve daha sonra bir desikatörde soğutuldu. Elde edilen numune hassas terazide tartılıp yüzde miktarı m/m olarak kütlece hesaplanmıştır (Tekinşen ve ark. 2002).

Protein Miktar Analizi: Deneysel yoğurt gruplarının protein miktarı formol titrasyon metoduyla yapılmıştır (TS 1330/Nisan 2006). Yoğurt numunesinden 50 g tartılıp (Ohaus, USA) üzerine 50 mL destile su ilave edildi. Daha sonra 0.5 mL %2 fenoltalein (Merck, Türkiye) ve 2 mL doymuş potasyum oksalat (Merck, Türkiye) eklendi ve karıştırıldı. Karışım 2 dk sonra 0.1 N sodyum hidroksit (NaOH) (Merck, Türkiye) ile hafifçe pembe renk elde edilene kadar titre edildi. Daha sonra karışıma 10 mL formaldehit (Merck, Türkiye) ilave edilip karıştırıldı. Karışım 1 dk bekledikten sonra yine pembe renk elde edilene kadar 0.1 N NaOH ile titre edildi. Son olarak titre edilen 0.1 N NaOH çözeltisi miktarları ile protein miktarı hesaplanmıştır.

Titrasyon Asitliği Tayini: Deneysel yoğurt gruplarından 10 g numune tartılıp üzerine 10 mL destile su eklendi. Karışıma 0.5 mL fenolftalin (Merck, Türkiye) ilave edilip 0.1 N NaOH ile yaklaşık 30 sn süresince kaybolmayan pembe bir renk alana kadar titre edildi. Sarfedilen 0.1 N NaOH miktarı ile titrasyon asitliği hesaplanmıştır (Tekinşen ve ark. 2002).

pH tayini: Yoğurt numunelerinin pH değerleri kalibrasyonu yapılmış, xerolyt polymer elektrolit dolgulu, ısı sensörlü bir pH metre ile (Mettler-Toledo, Switzerland) ölçülmüştür (Cemeroğlu 2013).

Duyusal analiz

Yapılan probiyotik yoğurtlar araştırmacılar tarafından Türk Standartları'na göre ve kör olarak değerlendirildi (TS 1330/Nisan 2006; TS 1018/Nisan 2002). Genel olarak yoğurt, TS 1330 Yoğurt Standardı değerlendirmesinin görünüş, kıvam, koku ve tat açısından özelliklerine uymalı ve her bir özellikten en az 4 puan ve toplamda 16 puan almalıdır.

İstatistiksel analiz

Toplamda 12 adet probiyotik yoğurt numunesinden elde edilen veriler, SPSS 16.0 istatistik paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Deneysel grupların mikrobiyolojik ve kimyasal analiz sonuçlarının kontrol grubu ile karşılaştırılması ve istatistiksel farklılığın olup olmadığını saptamak için parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. P değeri 0.05'e eşit veya daha düşük bulunduğu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Grupların ikili karşılaştırmaları için Bonferroni düzeltmesi kullanılarak post hoc analiz yapılmıştır. Duyusal analiz sonucu elde edilen veriler, her bir grup için toplam puan olarak hesaplandı. Niceliksel verilerin aritmetik ortalaması ve standart sapmaları hesaplanıp sonuçlar ortalama ± SD olarak verilmiştir.

BULGULAR

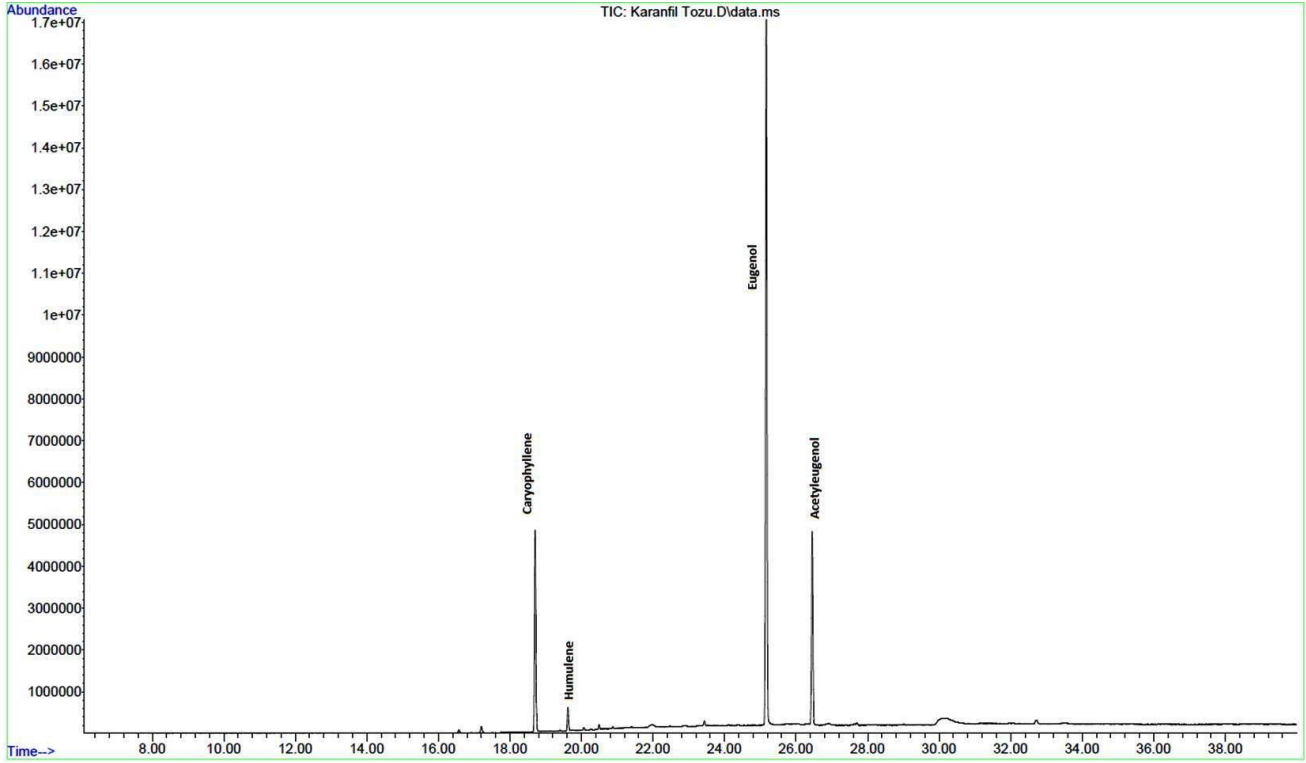
Toz haline getirilmiş olan karanfilde bulunan uçucu yağlar yüksek miktardan az miktara doğru sırasıyla şöyle bulunmuştur: Eugenol (%62.152), Acetyluengenol (%17.543), Caryophyllene (%17.049), Humulene (%1.847), Alfa coapene (%0.613), Cadinene (%0.371) ve diğerleri (%0.426). Karanfil tozunun uçucu yağ analizlerinin GC-MS kromatogramı uçucu yağların isimleriyle birlikte Şekil 1'de gösterilmiştir.

Streptococcus thermophilus sayısı, kontrol grubu probiyotik yoğurtta karanfil katkılı yoğurtlara göre önemli oranda yüksek çıkmıştır (P<0.05) (Şekil 2a). Diğer yandan karanfil katkılı gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında, artan karanfil konsantrasyonuna bağlı olarak bu bakterinin de sayısının arttığı tespit edilmiştir. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı, kontrol grubu probiyotik yoğurtta karanfil 1 ve karanfil 2 gruplarından daha yüksek iken karanfil 3 grubundan ise düşük bulunmuştur (Şekil 2b). Sadece kontrol grubu ile karanfil 1 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (P<0.05). Probiyotik bakterilerden *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* sayısı kontrol grubu probiyotik yoğurtta istatistiksel olarak karanfil 1 grubundan önemli düzeyde yüksek (P = 0.001) bulunmuş iken karanfil 2 ve karanfil 3 gruplarıyla anlamlı fark göstermemiştir (Şekil 2c). Probiyotik bakterilerden *Lactobacillus acidophilus* sayısı, kontrol grubu probiyotik yoğurtta karanfil katkılı yoğurtlara göre önemli oranda yüksek çıkmıştır (P = 0.001) (Şekil 2d).

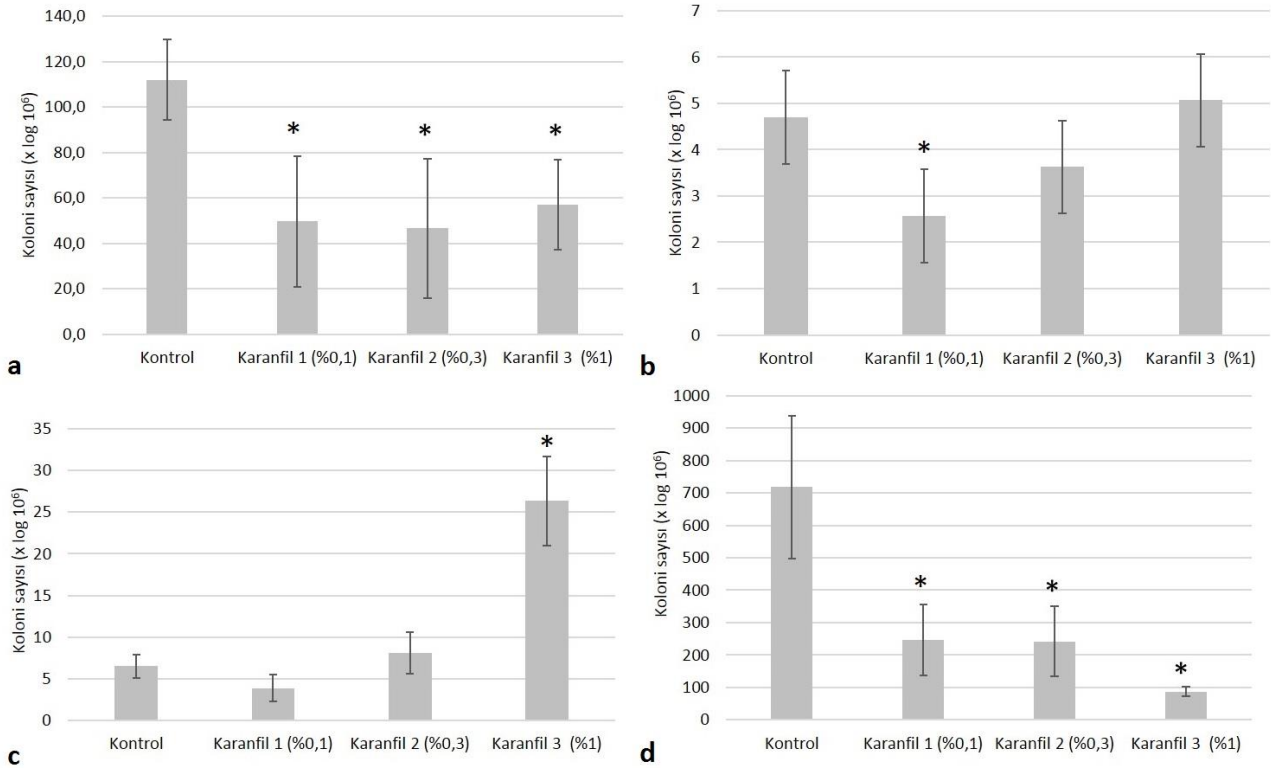
Diğer yandan, artan karanfil konsantrasyonuna bağlı olarak bu bakterinin de sayısı azalmıştır. Deneysel probiyotik yoğurt gruplarının ortalama % yağ, % yağsız kuru madde, % protein, % laktik asit miktarları ile pH değerleri Tablo 1'de gösterilmektedir.

Üretilen yoğurtların kimyasal analiz sonuçlarında istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır. Kontrol grubunun yağ miktarları, %0.3 ve %1 karanfil katkılı yoğurtlar ile aynı değeri gösterirken %0.1 karanfil katkılı yoğurtların yağ miktarı daha düşük bulunmuştur. Sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Kontrol grubunun yağsız kuru madde miktarı, karanfil gruplarına göre anlamlı düşük çıkmıştır.

Diğer yandan, yağsız kuru madde miktarı, artan karanfil konsantrasyonuna bağlı olarak artış göstermiştir. Tüm deneysel yoğurt gruplarının protein miktarları aynı olup herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Kontrol grubunun titrasyon asitliği karanfil gruplarına göre düşük bulunmuştur. Genel olarak titrasyon asitliği değerleri, artan karanfil konsantrasyonuna bağlı olarak yükselmiştir. Kontrol grubunun pH değeri karanfil gruplarından daha yüksek bulunmuştur. Artan karanfil konsantrasyonuna bağlı olarak yoğurtların pH değerleri de düşmüştür (sırasıyla 3.91 ± 0.06; 3.89 ± 0.05 ve 3.88 ± 0.01). Sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Duyusal analizler sonucunda kontrol grubu toplamda en yüksek puanı (160 puan) almıştır. Karanfil 1 ve karanfil 2 gruplarının puanları aynı bulunup (153 puan) kontrol grubuna yakındır. Ancak, karanfil 2 grubu yoğurtları için panelistler koku ve tat özelliklerini daha yüksek puanlandırmışlardır.



Şekil 1. Çalışmada kullanılan karanfilin GC-MS kromatogramı
Figure 1. GC-MS chromatogram of cloves used in the study



Şekil 2. Deneysel probiyotik yoğurt gruplarında bakterilerin miktarları a) *Sc. thermophilus*, b) *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, c) *B. animalis* ssp. *lactis* ve d) *L. acidophilus*. * Kontrol grubu ile karanfil grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05)

Figure 2. Bacterial numbers in experimental probiotic yogurt groups a) *Sc. thermophilus*, b) *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, c) *B. animalis* ssp. *lactis* ve d) *L. acidophilus*. * Differences between control group and clove's groups statistically significant (P<0.05)

Tablo 1. Probiyotik yoğurt gruplarının yağ, yağsız kuru madde ve protein oranları ile pH değerleri ortalama \pm SD olarak belirtilmiştir. SD: Standart sapma

Table 1. Fat, fat-free matter, protein percentages and pH values of probiotic yogurt groups are determined as mean \pm SD. SD: Standard deviation

	Kontrol (%0 karanfil)	Karanfil 1 (%0.1 karanfil)	Karanfil 2 (% 0.3 karanfil)	Karanfil 3 (%1 karanfil)
Yağ Miktarı (m/v %)	3.30 \pm 0.00	3.20 \pm 0.05	3.30 \pm 0.06	3.30 \pm 0.05
Yağsız Kuru Madde Miktarı (m/m %)	8.15 \pm 0.01	8.22 \pm 0.02	8.34 \pm 0.02	8.62 \pm 0.02
Protein Miktarı (m/m)	3.54 \pm 0.02	3.54 \pm 0.02	3.54 \pm 0.01	3.54 \pm 0.02
Titrasyon Asitliği (m/m %)	0.99 \pm 0.05	1.03 \pm 0.05	1.07 \pm 0.02	1.08 \pm 0.01
pH	3.98 \pm 0.08	3.91 \pm 0.06	3.89 \pm 0.05	3.88 \pm 0.01

TARTIŞMA ve SONUÇ

Probiyotik besinlerde, probiyotik mikroorganizmaların sayısı önerilen 1.0×10^6 kob/g değerini aşmalıdır (Samona ve Robinson 1994). Böylece, probiyotik ürün potansiyel olarak optimal terapötik etkilere ulaşabilir. Yapılan bir çalışmada, 10^{10} kob/g miktarında *Lactobacillus casei* toz preparatından bir yıl boyunca günde üç defa tüketen mesane kanserine yakalanmış bireylerde tedavi sürecinin hızlandığı tespit edilmiştir (Aso ve Akazan 1992). Diğer yandan, probiyotiklerle yapılan *in vitro*, *in vivo* ve insan çalışmalarında probiyotiklerin aynı zamanda birçok kanser türünün oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (Yu ve Li 2016). Çalışmamızda, probiyotik bakterilerin tüm deneysel gruplarda 1.0×10^6 kob/g değerini aştığı bulunmuştur. Ancak, kullanılan starterlerdeki bakterilerin sayısının tespiti yapılmamıştır. Genel olarak karanfil baharatının antibakteriyel etkiye sahip olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Burt 2004). Ancak, araştırmalar hep hayvan ve insan patojen bakterileri ile ilgilidir. Bu çalışma ile ilk defa olarak karanfilin yoğurt ve probiyotik yoğurt starter kültürleri üzerine etkisi ortaya konmuştur. Yüksek konsantrasyonda karanfil (%1) katılan probiyotik yoğurtlarda *B. animalis* ssp. *lactis* sayısı artmışken *L. acidophilus* sayısı azalmıştır. Yine aynı deneysel grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yoğurt bakterilerinden *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı artarken *Sc. thermophilus* sayısı azalmıştır. Diğer yandan, yüksek konsantrasyonda karanfil katılmış probiyotik yoğurtların duyu analizi sonucu, diğer deneysel yoğurt gruplarına göre puan olarak düşüktür. Kontrol yoğurtlarında *Sc. thermophilus* sayısı anlamlı yüksek olup duyu kalitesi de karanfil katılı probiyotik yoğurtlara nazaran yüksek bulunmuştur. Daha önce yapılmış bir çalışmanın sonuçları da bu sonuçları desteklemektedir ve bu çalışmada *Sc. thermophilus* sayısı ile yoğurtların duyu kalitesi arasında pozitif korelasyon bulunduğu rapor edilmiştir (Çakmakçı ve ark. 2012).

Buna karşılık, aynı çalışmada yüksek miktarda *B. bifidum* sayısının yoğurdun kabul edilebilirliğini artırdığı belirtilmiş olup bizim çalışmamızda ise bunun aksine *B. animalis* ssp. *lactis* sayısının yüksek olmasının yoğurdun duyu kalitesine olumlu etkisi görülmemiştir. Diğer yandan, üretilen karanfil katılı probiyotik yoğurtlarda karanfilin *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus acidophilus* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır. Bu durum, karanfilin esansiyel yağlarının veya başlıca bileşenlerinin bazı patojen mikroorganizmaların (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella*

typhi, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus*) hücre zarını parçalaması nedeniyle ilişkilendirilebilir (Cui ve ark., 2018; Devi ve ark., 2010; Rhayour ve ark., 2003; Xu ve ark., 2016). Çalışmada kullanılan toz haline getirilmiş karanfilin GC-MS analizi sonucu içinde en yüksek oranda bulunan Eugenol (%62.152) olup sonuç önceki araştırmalarla uyumlu bulunmuştur (Chaieb ve ark., 2007).

Yoğurt ülkemizde yaygın olarak tüketilen bir fermente besin olup kuru madde ve kalsiyum miktarı yüksek ve protein kalitesi iyidir. Deneysel probiyotik yoğurt gruplarının yapımında kullanılan sütteki yağ oranı %3 olup, yoğurt üretilirken buharlaşma nedeniyle toplam kuru maddesinin artmasıyla paralel olarak yoğurtların yağ miktarlarında da artış olmuştur. Grupların ortalama yağ oranı %3.2 \pm 0.1 olarak bulunmuştur. Karanfil 3 grubunda karanfil konsantrasyonunun diğer gruplara göre yüksek olmasına rağmen yoğurttaki yağ miktarının bundan etkilenmediği görülmüştür. Fenderya ve Akalın'ın (2003) çalışmasında, süt tozu katarak ürettikleri probiyotik yoğurtların ortalama yağ oranları %3.99 \pm 0.27 olarak bulunmuştur. Bu iki çalışma göz önüne alındığında, yoğurdun ham maddesi olan sütün yağ oranı doğrudan, üretilen probiyotik yoğurtların yağ oranını etkilemiştir. Çalışmamızda; karanfil gruplarının yağsız kuru madde miktarları, karanfil konsantrasyonuna bağlı olarak kontrol grubuna göre artış göstermiş ve tüm grupların ortalaması %8.33 \pm 0.2 olarak bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada, probiyotik katkı üretilen probiyotik yoğurtların kuru madde içerikleri %9.8-12.0 arasında bulunmuştur (Yeşilçubuk ve ark. 2014). Diğer bir araştırmada ise probiyotik yoğurtların toplam kuru madde miktarları ortalama %11.21 bulunmuştur (Fenderya ve Akalın 2003). Adı geçen çalışmalarda, yoğurtların yağsız kuru madde oranının çalışmamıza göre yüksek olması, diğer çalışmalarda probiyotik ve süt tozu katılmasından kaynaklanabilir. Çalışmamızda tüm grupların protein oranları aynı bulunmuştur (%3.54). Bu durum, karanfildeki protein oranının çok düşük olmasına (%3) bağlanabilir (SELF Nutrition data 2018). Diğer yandan, bir probiyotik yoğurt çalışmasında, elma lifi ilavesiz kontrol grubunda protein oranı %3.87 \pm 0.15 iken %1 elma lifi ilave edilmiş yoğurtta %3.86 \pm 0.21 bulunmuştur (Akın ve Akın 2016). Titrasyon asitliği karanfil gruplarında kontrol grubuna göre yüksek çıkmış ve karanfil konsantrasyonuna bağlı olarak artış görülmüştür (%1.03 \pm 0.05; % 1.07 \pm 0.02; %1.08 \pm 0.01). Yeşilçubuk ve ark. (2014)'nın yaptığı bir çalışmada, probiyotik yoğurtlarda titrasyon asitliği %0.8-1.0 arasında saptanmıştır. Diğer bir çalışmada, probiyotik yoğurtlarda titrasyon asitliği %1.02 \pm 0.02

olarak belirtilmiştir (Fenderya ve Akalın 2003). Kontrol grubunun pH değeri (3.98 ± 0.08), karanfil gruplarına göre yüksek çıkmışken, karanfil gruplarında pH değeri karanfil konsantrasyonuna bağlı olarak düşük bulunmuştur. Probiyotik yoğurttan çam balının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise; bal ilavesiz kontrol grubu yoğurtlarda ölçülen pH değeri, %2, %4 ve %6 çam balı ilave edilmiş yoğurtlara göre daha yüksek çıkmıştır (Dirican-Karabulut 2017). Çalışmamızda, asitlik değeri birbirine yakın olan kontrol ile karanfil 1 ve 2 gruplarının duyu analizi sonuçları da, toplam kabul edilebilirlik puanlamasında birbirine yakın bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada, muz katkılı probiyotik yoğurtların asitliği ile duyu değerlendirilmesinde kabul edilebilirlik arasında pozitif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Çakmakçı ve ark. 2012).

Sonuç olarak; probiyotik yoğurda katılan karanfilin, ürünün mikrobiyal ve kimyasal kalitesini artırdığı diğer yandan duyu özellikleri üzerinde ise de önemli düzeyde bir olumlu etkisinin olmadığı görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi Koordinasyonu tarafından destek almıştır (Proje no: 1.2017/13). Ayrıca çalışmamız 28-29 Haziran 2019 tarihlerinde 2nd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (Ankara, Türkiye) kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuş ve özeti kongre kitapçığında basılmıştır (sayfa no: 629).

KAYNAKLAR

- Akın MS, Akın MB (2016). Elma lifi ile zenginleştirmenin set tipi yoğurtların bazı özelliklerine etkisi. *Harran Tar Gıda Bil Derg*, 20, 94-104.
- Aso Y, Akazan H (1992). Prophylactic effect of a *Lactobacillus casei* preparation on the recurrence of superficial bladder cancer. *Urol Intl*, 49, 125-129.
- Begum PS, Madhavi G, Rajagopal S, Viswanath B, Razak MA, Venkataratnam V (2017). Probiotics as functional foods: potential effects on human health and its impact on neurological diseases. *Int J Nutr Pharmacol Neuro Dis*, 7, 23.
- Burt S (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol*, 94, 223-253.
- Cava R, Nowak E, Taboada A, Marin-Iniesta F (2007). Antimicrobial activity of clove and cinnamon essential oils against *Listeria monocytogenes* in pasteurized milk. *J Food Protect*, 70, 2757-2763.
- Cemeroğlu BS (2013). Gıda Analizleri. Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar T, Kahla-Nakbi AB, Rouabhia M, Mahdouani K, Bakhrouf A (2007). The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytotherapy Res*, 21(6), 501-506.
- Cui H, Zhang C, Li C, Lin L (2018). Antimicrobial mechanism of clove oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 94, 140-146.
- Çakmakçı S, Çetin B, Turgut T, Gürses M, Erdoğan A (2012). Probiotic properties, sensory qualities, and storage stability of probiotic banana yogurts. *Turk J Vet Anim Sci*, 36, 231-237.
- Devi KP, Nisha SA, Sakthivel R, Pandian SK (2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *J Ethnopharmacol*, 130(1), 107-115.
- Dirican-Karabulut L (2017). Probiyotik Yoğurdun Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Özellikleri Üzerine Çam Balının Etkisi. Tez (Yüksek Lisans). Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.

- Fenderya S, Akalın AS (2003). Probiyotik yoğurtların bazı kimyasal özellikleri üzerine bir araştırma. *Ege Üniv Ziraat Fak Derg*, 2003, 40, 87-94.
- Granato D, Nunes DS, Barba FJ (2017). An integrated strategy between food chemistry, biology, nutrition, pharmacology, and statistics in the development of functional foods: A proposal. *Trends Food Sci Technol*, 62, 13-27.
- Hammad AM (2016). Antimicrobial effect of cinnamon and clove on *Staphylococcus aureus* in milk and yogurt. *AJVS*, 48, 1-6.
- International Organization for Standardization (ISO), International Dairy Federation (IDF) (2006). Milk products – Enumeration of presumptive *Lactobacillus acidophilus* on a selective medium – Colony-count technique at 37 °C. International Standard ISO 0128:2006(E) / IDF 192:2006(E). ISO, Geneva, Switzerland / IDF, Brussels, Belgium, 11 pp.
- International Organization for Standardization (ISO), International Dairy Federation (IDF) (2010). Milk products – Enumeration of presumptive bifidobacteria – Colony count technique at 37 °C. International Standard ISO 29981:2010(E)/IDF 220:2010(E). ISO, Geneva, Switzerland / IDF, Brussels, Belgium, 17 pp.
- Kıyak SN, Dağlı Y, Zeren Ü, Arıburnu M, Gülbandır A, Dönmez M, Okur M. (2014). A functional food: "Şifalı Top". *Turk J Agricult-Food Sci Technol*, 2, 277-279.
- Kopp-Hoolihan L (2001). Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. *J Am Diet Assoc*, 101, 229-241.
- Lourens-Hattingh A, Viljoen BC (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *Int Dairy J*, 11, 1-17.
- Milind P, Deepa K (2011). Clove: a champion spice. *Int J Res Ayurveda Pharm*, 2, 47-54.
- Mishra RK, Singh SK (2013). Reproductive effects of lipid soluble components of *Syzygium aromaticum* flower bud in male mice. *J Ayurveda Integr Med*, 4, 94.
- Mytle N, Anderson GL, Doyle MP, Smith MA (2006). Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. *Food Control*, 17, 102-107.
- Nascimento GG, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazil J Microbiol*, 31, 247-256.
- Rhayour K, Bouchikhi T, Tantaoui-Elaraki A, Sendide K, Remmal A. (2003). The mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *J Essential Oil Res*, 15(5), 356-362.
- Roberfroid MB (2000). Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am J Clin Nutr*, 71, 1682-1687.
- Samona A, Robinson RK (1994). Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. *J Soc Dairy Tech*, 47, 58-60.
- Sanches B, De Los Reyes-Gavilán CG, Margolles A, Gueimonde M (2009). Probiotics fermented milks: present and future. *Int J Dairy Technol*, 62: 472-483.
- SELF Nutrition Data. Spices, cloves, ground Nutrition facts & calories <http://nutritiondata.self.com/facts/spices-and-herbs/181/2>, Erişim tarihi: 12 Şubat 2018.
- Süle J, Körösi T, Hucker A, Varga L (2014). Evaluation of culture media for selective enumeration of bifidobacteria and lactic acid bacteria. *Brazil J Microbiol*, 45, 1023-1030.
- Tekinşen OC, Atasever M, Keleş A, Tekinşen KK (2002). Süt, Yoğurt, Tereyağı, Peynir Üretim ve Kontrol. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya.
- Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Yönetmeliği/ Ek-15: Sağlık Beyanları ve Beyan Koşulları
- Türk Standartları: İnek sütü – Çiğ Standardı. TS 1018/Nisan 2002
- Türk Standartları: Yoğurt Standardı. TS 1330/ Nisan 2006
- Yeşilçubuk Ş, Ünver N, Hazal İ (2014). *Saccharomyces boulardii* Kullanarak Probiyotik Yoğurt Üretimi ve Bazı Probiyotiklerin Yoğurtların Çeşitli Nitelikleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Tez (Yüksek Lisans). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yu AQ, Li L (2016). The potential role of probiotics in cancer prevention and treatment. *Nutr Cancer*, 68, 535-544.
- Xu, J. G., Liu, T., Hu, Q. P., & Cao, X. M. (2016). Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 21(9), 1194.