

PROBİYOTİK OLMA ÖZELLİĞİ TAŞIYAN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN DONDURMA ÜRETİMİNDE KULLANILMASI

USE OF LACTIC ACID BACTERIA HAVING PROBIOTIC PROPERTIES IN ICE CREAM MANUFACTURE

Gülden BAŞYİĞİT¹, Aynur Gül KARAHAN¹, M. Lütfü ÇAKMAKÇI²

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta

²Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

ÖZET: Bu çalışmada, SDÜ Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan sağlanan insan gastrit biyopsi örneklerinden ve gaytasından izole edilip, tanımlanmış ve bazı probiyotik özellikleri belirlenmiş *L. agilis* AA17-73, *L. casei* subsp. *rhamnosus* AK7-29, *L. intestinalis* AK5-22, *L. plantarum* AK4-120 ve BK9-40, *L. rhamnosus* AK6-27, *L. sp.* AB16-77, AB16-68 ve AK2-8, *E. faecalis* AB6-24, *E. malodaratus* AK7-32, *E. saccharolyticus* AK7-31 ve BK13-53 ile hazırlanan probiyotik kültür kullanılarak, laboratuvar koşullarında dondurma üretimi yapılmıştır. 2 ay süresince -20 °C'de depolanan probiyotik özellikteki dondurmadan 15 günde bir alınan örneklerde laktik asit bakterilerinin canlılığı, kurumadde miktarı, yağ, pH ve titrasyon asitliğinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre -20 °C'de 2 aylık depolama süresinin sonunda dondurmaya ilave edilen laktik asit bakterilerinin canlılıklarını korudukları ve dondurmanın kimyasal özelliklerinde önemli değişimlerin olmadığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, dondurmanın probiyotik uygulaması için uygun bir gıda olduğunu ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, dondurma, laktik asit bakterileri

ABSTRACT: In this study, the ice cream was manufactured in laboratory conditions by using *L. agilis* AA17-73, *L. casei* subsp. *rhamnosus* AK7-29, *L. intestinalis* AK5-22, *L. plantarum* AK4-120 and BK9-40, *L. rhamnosus* AK6-27, *L. sp.* AB16-77, AB16-68 and AK2-8, *E. faecalis* AB6-24, *E. malodaratus* AK7-32, *E. saccharolyticus* AK7-31 and BK13-53 which were isolated from human gastride biopsy and faeces samples obtained from SDU Hospital, Division of Gastroenterology, identified and determined some probiotic properties. Ice cream samples were stored at -20 °C for 2 months and survival of lactic acid bacteria, dry matter, fat, pH and titratable acidity were determined with a 15 day intervals during storage. Results of this study indicated that lactic acid bacteria survived in ice cream stored at -20 °C for two months and did not change chemical characteristics of ice cream. Therefore ice cream is a food source which is proper for application of probiotics from lactic acid bacteria.

Keywords: Probiotic, ice cream, lactic acid bacteria

GİRİŞ

Günümüzde gıdalar, tüketiciler tarafından lezzet ve besin içeriklerinin yanı sıra özel yararlar sağlama durumlarına göre de tercih edilmektedir. Bu nedenle fonksiyonel gıdalar, gıda pazarından önemli ve hızla artan bir pay almaktadır. Özellikle probiyotik ve prebiyotik içeren fonksiyonel gıdalar son yıllarda güncellik kazanmıştır (Yıldırım, Bayram ve Yıldırım 2003). Ticari probiyotik preparatlarında en yaygın olarak kullanılan laktik

¹ E-posta: aynur@sdu.edu.tr

asit bakterileri *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium* ve *Enterococcus* cinsine ait olanlardır (Tannock 1999). Bu mikroorganizmalar, gastrointestinal sistemin en önemli grubunu oluşturmaktadır (Çakır 2003). Probiyotik bakterilerin gıdalarda kullanılmasında göz önünde bulundurulması gereken özellikler; seçilen suşların güvenilir olması, insan kaynaklı olması, düşük pH ve safra tuzları gibi olumsuz çevre koşullarından etkilenmemesi, bağırsakta tutunabilmesi, üretim ve depolama sırasında canlılığını koruyabilmesi, patojenik bakterilere karşı antagonistik etki gösterebilmesidir. Ayrıca antibiyotiğe bağlı olarak ortaya çıkan diyare gibi hastalıklarda bağırsak florasını düzeltmek amacı ile kullanılabilirliğinden antibiyotiklerden etkilenmemesi de istenen özelliklerdendir (Lee ve Salminen 1995, Shortt 1999, Alamprese, Foschino, Rossi, Pompei ve Savari 2002).

Dondurma, genel olarak, süt ve mamülleri, tatlandırıcı maddeler, stabilizer-emülsifiyerlerle aroma maddelerinin karışımından oluşan bir ürün olarak tanımlanmaktadır (Gürsel ve Karacabey 1998). Son yıllarda probiyotik kültür kullanılarak dondurma üretimine yönelik çalışmalara ilgi artmıştır. Biyodondurma; *B. bifidum* ve *L. plantarum* gibi sağlık üzerinde koruyucu etkisi olan probiyotik mikroorganizmaları içeren dondurmadır. Bu dondurmanın üretiminde 10^5 – 10^7 düzeyinde probiyotik mikroorganizmanın ilave edilmesinin, tedavi ve koruyucu etki için yeterli olduğu belirlenmiştir. Probiyotik mikroorganizmaların ilavesiyle hazırlanan biyodondurma gelecekteki dondurmanın tadında ve kıvamında değişime sebep olmamakta ve standart depolama koşullarında muhafaza edilebilmektedir. Biyodondurmanın çocukların ve yetişkinlerin sağlığı üzerinde iyileştirici etkileri olduğu Ruslar tarafından yaygın olarak kullanılan "Sağlıklı Diyet" programı ile ispatlanmıştır. Biyodondurma bağırsak mikroflorasını düzeltmekte, buna bağlı olarak bağırsaklık sistemini iyileştirmekte ve vücut direncini arttırmaktadır (Bioice 2000). Araştırmalarda probiyotik bakterilerin süt ürünleriyle veya süte eklenerek bir süre tüketilmelerinin bireylerin bağırsak florasında, *Clostridium difficile*, *E. coli*, *Salmonella* gibi enterik bakterilerin sayısında azalmaya, buna karşılık probiyotik popülasyonda artışa sebep oldukları saptanmıştır (Mitsuoka 1990, Fang, Tuomola, Arvilommi ve Salminen 2000).

Endüstriyel açıdan probiyotik kültürler; istenen reolojik, organoleptik özelliklere ve tekstüre sahip olan probiyotik süt ürünlerinin hazırlanmasındaki etkileri ve bu ürünlerde canlı kalma süreleri açısından değerlendirilmektedir (Svensson 1999). National Nutritional Foods Association tarafından Kaliforniya'da yapılan bir araştırmada, satılan probiyotik ürünlerin etiketlerinde belirtilenden %50 daha az canlı mikroorganizma içerdikleri tespit edilmiştir (Çakır ve Çakmakçı 2002).

Yapılan bu çalışmada, insan mide ve bağırsak florasından izole edilmiş, probiyotik olma özelliği taşıyan *Lactobacillus* ve *Enterococcus* cinslerine ait bakterilerden probiyotik kültür hazırlanmıştır. Bu kültürün kullanılmasıyla üretilen dondurmada -20 °C'de iki aylık depolama süresince meydana gelen değişimler belirlenmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada kullanılan laktik asit bakterileri Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenen 517 no'lu proje kapsamında (Karahana ve Başyigit 2004) gastrit biyopsi ve gayta örneklerinden izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Bu bakterilerin düşük pH (pH 3.5), safra tuzu ve antibiyotik dirençlilikleri belirlenmiştir. Düşük pH'ya, safra tuzuna ve antibiyotiklere en yüksek direnç gösteren 13 adet laktik asit bakterisi seçilerek, dondurma üretiminde kullanılmıştır.

Yöntem

Probiyotik kültürün hazırlanması

Laktobasiller MRS sıvı besiyerinde, enterokoklar ise M17 besiyerinde 10^9 kob/ml olacak şekilde 37 °C'de 18 saat inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonrasında gelişen kültürler steril şartlarda 4 °C'de $10\ 000$ rpm'

de 15 dakika santrifüj edilmiştir (Hettich Universal 32R). Elde edilen pelet steril tüp içinde toplanıp, üzerine steril skim milk besiyeri eklendikten sonra kullanılıncaya kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

Dondurma yapımı

Dondurma üretimi, S.D.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Dondurma bileşimi %15 şeker, %8 süttozu, %0,3 emülgatör ve %6 toplam yağ olacak şekilde hazırlanmıştır. Elde edilen miks, $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dakika pastörize edildikten sonra $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 10 saat bekletilmiş, laboratuvar koşullarında steril blenderde 2 dakika homojenize edildikten sonra 2 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu (K) herhangi bir işlem yapılmadan paketlenmiştir. Probiyotik grup (P) ise yaklaşık 10^7 kob/ml düzeyinde probiyotik kültür ilave edilip, homojen şekilde karıştırıldıktan sonra paketlenmiştir. Her iki grup dondurma $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmıştır. Dondurma örneklerinin kimyasal (kurumadde, yağ, pH ve titrasyon asitliği) ve mikrobiyolojik analizleri (laktik asit bakteri sayımı, koliform, maya ve küf sayımı) depolamanın 1., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde yapılmıştır. Üretim 2 tekerrürü olarak gerçekleştirilmiştir.

Kimyasal analizler

Örneklerin analize hazırlanması, toplam kurumadde, yağ ve titrasyon asitliği tayini TS 4265'e göre yapılmıştır (Anonim 1992). Dondurmaların pH değerleri el tipi pH-metre (WTW-537) ile belirlenmiştir.

Mikrobiyolojik analizler

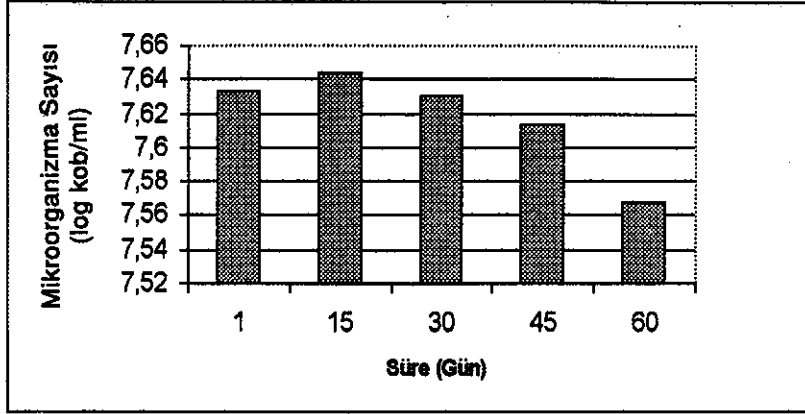
Laktik asit bakterilerinin sayımı için MRS agar (Merck) besiyerine ekim yapılmış, Petri kutuları $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edilmiştir (Kontula vd 2000, Temmerman, Pot, Huys, Swings 2003). Koliform grubu bakteri sayımı TS 4265'e göre yapılmıştır (Anonim 1992). Maya ve küf sayımı için pH' sı 3,5'e ayarlanmış Potato Dekstroz Agar (Merck) besiyerine ekim yapılmış ve Petri kutuları $22-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 4-5 gün inkübasyona bırakılmıştır (Durlu-Özkaya ve Kuleaşan 2000, Karahan, Cicioğlu-Ardoğan, Çakmakçı 2002).

İstatistik Analizler

Tek yönlü varyans analizi yöntemi ile çeşitler arasında ve depolama süresince laktik asit bakterisi, kurumadde, yağ, pH ve SH bakımından farklılıklar araştırılmıştır. Analizler için MINITAB® paket programı kullanılmıştır (Anonymous 1996).

SONUÇ ve TARTIŞMA

Çalışmada P grubunda depolamanın başlangıcında sayılan laktik asit bakterisi $4,3 \times 10^7$ kob/g düzeyinde iken bu sayının 2 aylık depolama süresi sonunda $3,7 \times 10^7$ kob/g'a düştüğü belirlenmiştir. Sonuçlara göre kontrol grubu ve probiyotik ilave edilmiş gruplar arasında tüm özellikler bakımından istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($p > 0.05$). Yapılan bu çalışmada $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 2 aylık depolama süresinin sonunda, dondurmaya ilave edilen laktik asit bakterilerinin canlılıklarını korudukları belirlenmiştir (Şekil 1). Benzer sonuçlar yapılan farklı araştırmalarda da belirtilmiştir. Hekmat ve McMahan (1992) *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* ilave ederek hazırladıkları fermente mikste, depolama süresinin başlangıcında *L. acidophilus*'u $1,5 \times 10^8$ kob/ml ve *B. bifidum*'u ise $2,5 \times 10^8$ kob/ml olarak saymışlardır. 17 haftalık depolama süresinin sonunda ise bu sayıların 4×10^6 ve 1×10^7 kob/ml'ye düştüğünü tespit etmişlerdir. Christiansen, Edelsten, Kristiansen ve Nielsen (1996), Hagen ve Narvhus (1999), Alamprese vd (2002)'de yaptıkları çalışmalarda karışık probiyotik kültür ilave edilmiş dondurmalarda 16 hafta ile 52 haftalık depolama sürelerinde bakteri sayısında önemli bir azalış olmadığını tespit etmişlerdir. Depolamanın 1., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde küf, maya ve koliform grubu bakteri gelişimi gözlemlenmemiştir.



Şekil 1. Karışık probiyotik kültür sayısının günlere göre değişimi

Üretilen dondurmanın başlangıç kurumadde ve yağ miktarı açısından TS 4265 Dondurma-Süt Esaslı Standardına göre 'Yarım Yağlı Dondurma' standardında olduğu belirlenmiştir (Anonim 1992). Başlangıç kurumadde miktarları K grubunda %35,270, P grubunda ise %35,785 olarak ölçülürken, depolama süresinin sonunda bu değerlerin %33,225 ve %33,060'a düştüğü tespit edilmiştir. Her iki dondurma grubunda yağ miktarlarının %6 düzeylerinde olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmada depolama süresince kimyasal özelliklerde meydana gelen değişimler Çizelge 1'de gösterilmiştir. Kurumadde, yağ, yağsız kurumadde, pH ve asitlik değerleri açısından elde edilen sonuçlarda farklılıklar gözlemlense de yapılan istatistiksel analizde bu farklılıkların önemsiz olduğu ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Dondurma örneklerinde depolama süresince kimyasal özelliklerdeki değişiklikler

Günler	Kuru madde (%)		pH		Titrasyon asitliği (SH)		Yağ (%)		Yağsız kuru madde	
	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P
1	35,27	35,79	6,18	6,18	53	57	6,05	6,10	29,22	29,69
15	34,84	34,25	6,12	6,30	57	58	6,15	6,05	28,69	28,20
30	32,44	33,48	6,17	6,15	50	52	6,04	6,15	26,39	27,33
45	33,08	33,77	6,16	6,09	56	55	6,10	6,00	26,98	27,67
60	33,23	33,06	6,17	6,20	50	52	6,10	6,05	27,13	27,01

Godward ve Kailasapathy (2003) yaptıkları çalışmada hazırladıkları probiyotik dondurmanın yağ miktarını %14, kurumadde miktarını ise %48 olarak saptamışlardır. Dondurmadaki serbest hücrelerin canlılığını korumasının, dondurma miksindeki toplam kurumadde miktarına ve emülsiyon halindeki yüksek yağ oranına bağlı olduğunu ifade etmişlerdir. Yarım yağlı dondurma standardına uygun olan dondurmada yağ oranı ve kurumadde miktarı daha düşük olduğu halde, bu oranların da bakterilerin canlılığını koruması için yeterli olduğu ve bu özellikler bakımından hazırlanan dondurmanın tüketiciler tarafından hem diyet özelliği hem de probiyotikle rin alınması için uygun bir gıda olduğu belirtilebilir.

Dondurma örneklerinde K ve P grubunda başlangıç pH değerleri 6,18, titrasyon asitliği ise 53 ve 57 °SH olarak ölçülmüş ve 2 aylık depolama süresince bu değerlerde de önemli değişikliklerin olmadığı gözlemlenmiştir.

Son yıllarda ABD, Avrupa ve Japonya'da probiyotik ürünlerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Toz, tablet vb şekillerde saf olarak pazara sunulan probiyotiklerin yanı sıra tüketim kolaylığı nedeniyle probiyotik içeren gıda maddelerinin üretimi de yaygınlaşmaktadır. Ülkemizde probiyotik gıda üretimi yurt dışından alınan ticari probiyotik kültürlerle gerçekleştirilmekte, probiyotik bakterilere yönelik çabalar ise araştırmalarla kısıtlı kalmaktadır. Oysa insanlarda doğal bağırsak florası yöreden yöreye değişmekte ve bireyin etkilendiği koşullar doğal floranı da etkilemektedir. Bu nedenle beslenme alışkanlıkları farklı olan toplumumuza özgü bağırsak kökenli laktik asit bakterileri kullanılarak, yeni gıdaların üretilmesi yönüyle bu çalışma önem taşımaktadır. Yüksek besin değerinin yanında, probiyotik kültür ilavesiyle dondurmanın sağlık üzerindeki etkileri daha da artırılmıştır. Depolanması sırasında ilave edilen kültürlerin canlılığını kaybetmemesi hem tüketiciler hem de üreticiler açısından probiyotik dondurmaya daha cazip hale getirme olasılığı oldukça yüksektir. Bu nedenle ürünün ticari boyutta değerlendirilmesinden önce, insan sağlığı üzerindeki etkilerinin hayvan denemeleri ile aydınlatılması hedeflenmektedir. Hayvan denemeleri ile alınacak sonuçların şimdiye kadar yapılmış çalışmaları desteklemesi durumunda, bu ürünün yaygın kullanımı için ölçek büyütme çalışmalarına gidilecektir.

KAYNAKLAR

- Alamprese C, Foschino R, Rossi M, Pompei C and Savari L. 2002. Survival of *Lactobacillus johnsonii* La1 and influence of its addition in retail manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentration. *Int. Dairy J.* 12: 201-208.
- Anonim 1992. TS 4265 'Dondurma-Süt Esaslı' Standardı. Türk Standartlar Enstitüsü, 2 s, Ankara.
- Anonymous 1996. MINITAB Statistical Software Release 11.12. MINITAB Inc. Enterprise Drive, State College, PA 6801-3008, USA.
- Bioice 2000. Bio-Ice cream. www.bioice.tomsk.ru/books.shtml
- Christiansen PC, Edelsten D, Kristiansen JR and Nielsen EW. 1996. Some properties of ice cream containing *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*. *Milchwissenschaft*, 51, 9: 502-505.
- Çakır İ ve Çakmakçı ML. 2002. Probiyotik teknoloji ve Türkiye'deki durumu, Türkiye 7. Gıda Kongresi, 179-186 s, 22-24 Mayıs 2002, Ankara.
- Çakır İ. 2003. Laktobasillus ve bifidobakterlerde bazı probiyotik özelliklerin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 83 s, Ankara.
- Durlu-Özkaya F ve Kuleaşan H. 2000. Maya ve Küf. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. 331-332 s, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- Fang H, Tuomola E, Arvilommi H and Salminen S. 2000. Modulation of humoral immune response through probiotic intake. *FEMS Immun. Med. Microbiol.* 29: 47-52.
- Godward G and Kailasapathy K. 2003. Viability and survival of free, encapsulated and co-encapsulated probiotic bacteria in ice cream. *Milchwissenschaft*, 58,3/4: 161-164.
- Gürsel A ve Karacabey A. 1998. Dondurma teknolojisine ilişkin hesaplamalar, reçeteler ve kalite kontrol testleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:1498, Yardımcı Ders Kitabı:452, Ankara.
- Hagen M and Narvhus A. 1999. Production of ice cream containing probiotic bacteria. *Milchwissenschaft*, 54, 4: 265-268.
- Hekmat S and McMahan DJ. 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *J. Dairy Sci.* 75, 6: 1415-1422.
- Karahan AG, Cicioğlu-Ardoğan B ve Çakmakçı ML. 2002. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Kılavuzu, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No:24, 171s, Isparta.
- Karahan AG ve Başyigit G. 2004. Bazı laktik asit bakterilerinin probiyotik olarak kullanıma özellikleri. Süleyman Demirel Üniversitesi, Araştırma Projeleri Yönetim Birimi, Proje No: 517.

- Kontula P, Suihko ML, Suortti T, Tenkanen M, Mattila-Sandholm T and von Wright, A. 2000. The isolation of lactic acid bacteria from human colonic biopsies after enrichment on lactose derivatives and rye arabinoxylo-oligosaccharides. *Food Microbiol*, 17: 13-22.
- Lee YK and Salminen S. 1995. The coming of age of probiotic. *Trends Food Sci. Tech*, 6: 241-245.
- Mitsuoka T. 1990. Bifidobacteria and their role in human health. *J. Ind. Microbiol. Biot.* 6: 263-268.
- Shortt C. 1999. The probiotic century: historical and current perspectives. *Trends Food Sci. Tech*, 10: 411-417.
- Svensson, U., 1999. Industrial Perspectives. In: *Probiotics, A critical review*. GW Tannock (ed) pp.57-65, Horizon Scientific Press, Norfolk, England.
- Tannock GW. 1999. Analysis of the intestinal microflora: a renaissance. *Anton. Leeuw*, 76: 265-278.
- Temmerman R, Pot B, Huys G and Swings J. 2003. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *International J. Food Microbiol*, 81: 1-10.
- Yıldırım Z, Bayram M ve Yıldırım M. 2003. SEYES, Probiyotik, prebiyotik ve insan sağlığı üzerindeki yararlı etkileri. Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu, 267-272 s, 22-23 Mayıs 2003, İzmir.