

**Geleneksel Fermente Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Meyve
Suyundan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik
Özellikleri ve Endüstriyel Üretimde Kullanımları**

Proje No: 110O214

Doç.Dr. Osman SAĞDIÇ

Prof. Dr. Hasan YETİM

Prof. Dr. Mehmet HAYTA

Doç.Dr. Kemal SARIOĞLU

Nurdan YAPAR

Danışman

Doç. Dr. Zülal KESMEN

HAZİRAN 2013

İSTANBUL

Önsöz

Dünyada ve ülkemizin çeşitli illerinde doğal olarak yetişen ve yabani bir bitki olan gilaburunun meyvesi, Kayseri, Sivas, Tokat ve Konya yöresi dahil bazı bölgelerde fermente edilerek tüketilmektedir. Gilaburu meyvesinin, yüksek tanen ve polifenol içeriklerinden dolayı kendine has acı bir tada sahip olması, taze olarak tüketimini engelleyen en önemli faktördür. Bu nedenle gilaburu meyvesi ülkemizde, yaklaşık 3-5 ay suda fermente edilerek acılığı giderildikten sonra, meyvelerinin ezilmesi ile elde edilen meyve suyu şeklinde tüketilmektedir. Bu proses için meyve, sonbaharda sapsı ile birlikte toplanmakta ve çeşme suyu ile yıkandıktan sonra üç-beş ay, farklı ebatlarda plastik kaplarda yine çeşme suyu içinde bekletilerek olgunlaştırılmaktadır. Daha sonra meyveler suyun içinden çıkarılıp ezilerek meyve suyu elde edilmektedir.

Gilaburu suyu günümüzde böbrek taşı bulunan insanlara iyi geldiği ve sağlığa faydalı olduğu düşüncesiyle fonksiyonel bir gıda olarak tüketilmektedir. Bu meyve suyunun acı tada sahip olup tüketiminin zor olmasından dolayı, genellikle sulandırılarak ve biraz da şeker eklenerek tüketilebilir hale gelmektedir. Son zamanlarda, mevsiminde toplanan meyvelerin hemen işlenmesi ile gilaburu meyve suyunun endüstriyel üretimine de başlamıştır. Ancak, geleneksel olarak evde hazırlanan gilaburu sularında, hem acı tadın kaybolması ve hem de muhtemel probiyotik laktik asit bakterilerinin gelişmesi sonucu, bu meyvelerden biyolojik olarak daha değerli fonksiyonel bir ürün elde edilmektedir. Bu proje kapsamında gilaburu suyunu daha fonksiyonel hale getirmek ve kullanımını yaygınlaştırmak için probiyotik özellikli laktik asit bakterileri (LAB) ilave edilerek probiyotik gilaburu suyu üretimi amaçlanmıştır.

TÜBİTAK TOVAG desteği (Proje no: TOVAG 1100214) sayesinde bu projede, geleneksel bir ürünümüz olan gilaburunun, geleneksel tadı korunarak, modern üretime kazandırılmaya ve fonksiyonel özelliği artırılmaya çalışılmıştır. Elde edilen başarılı sonuçlarla, fermente gilaburu suyunun fonksiyonel gıda olarak tüketiciye alternatif olacağını düşünüyor ve diliyoruz.

İstanbul, 2013

Proje Yürütücüsü
Doç. Dr. Osman Sağdıç

Teşekkür

Bu projeye emeği geçen tüm proje ekibine, proje ekibinde yer almadığı halde gerektiğinde yardımlarını ve değerli vakitlerini bu projeye ayıran Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nün değerli ğretim yeleri Yrd. Doç. Dr. Mustafa AM ve Yrd. Doç. Dr. Lütfiye EKİCİ 'ye teşekkür ederim.

Proje Yürütücüsü
Doç. Dr. Osman Sağdıç

İçindekiler

Önsöz	i
İçindekiler	iii
Tablo Listesi.....	vi
Şekil Listesi.....	vii
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1. GİRİŞ	5
2. GENEL BİLGİLER	7
3. GEREÇ ve YÖNTEM	16
3.1. Gereç	16
3.2. Yöntem	17
3.2.1. Piyasadan Toplanan ve Kontrollü Şartlar Altında Fermente Edilen Gilaburu Suyu Örneklerinde Yapılan Analizler	17
3.2.1.1. Fizikokimyasal analizler	17
3.2.1.1.2. pH.....	17
3.2.1.1.3. Asitlik (%)	17
3.2.1.1.4. İndirgen şeker	18
3.2.1.1.5. Protein	18
3.2.1.1.6. Kül.....	19
3.2.1.1.7. Ham selüloz	19
3.2.1.1.8. Yağ	20
3.2.1.1.9. Etil alkol	20
3.2.1.2. Biyoaktif özellik analizleri.....	21
3.2.1.2.1. Askorbik asit	21
3.2.1.2.2. Toplam fenolik madde	21
3.2.1.2.3. Antioksidan aktivite	22
3.2.1.2.4. Serbest radikal temizleme aktivitesi (Antiradikal aktivite)	22
3.2.1.2.5. Toplam antosiyanin tayini	22
3.2.1.3. Duyusal analizler	23
3.2.1.4. Mikrobiyolojik analizler ve laktik asit bakterilerinin izolasyonu	23
3.2.1.4.1. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı (TMAB).....	24
3.2.1.4.2. Asidofilik sporlu bakteri (<i>Alicyclobacillus</i> spp.) sayımı	24
3.2.1.4.3. Toplam koliform sayımı	24
3.2.1.4.4. <i>Escherichia coli</i> sayımı	24
3.2.1.4.5. <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı	24
3.2.1.4.6. Küf ve maya sayımı	24
3.2.1.4.7. Laktik asit bakteri (LAB) sayımı	25
3.2.1.5. UFLC yöntemi ile fenolik asitlerin, flavonoidlerin ve antosiyaninlerin analizi	25
3.2.1.5.1. Fenolik asit ve flavonoidlerin analizi	25
3.2.1.5.2. Antosiyaninlerin analizi	27
3.2.1.6. GC-MS yöntemi ile toplam uçucu aroma maddeleri analizi	29
3.2.2. Gilaburu Sularından LAB İzolasyonu ve Tanımlanması	30
3.2.2.1. Laktik asit bakterileri (LAB)'nin izolasyonu ve saflaştırılması	30
3.2.2.2. LAB 'nden DNA izolasyonu	30
3.2.2.3. LAB 'nin rep PCR (GTG5) analizi	31
3.2.3. Gilaburu Suyundan İzole Edilen ve Tanımlanan LAB 'ne Uygulanan Testler	32
3.2.3.1. Gram boyama	32

3.2.3.2. Katalaz testi.....	32
3.2.3.3. Glukozdan gaz oluşturma	32
3.2.3.4. 15°C ve 45°C 'de gelişme.....	32
3.2.3.5. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme	33
3.2.3.6. İzolatların asit üretme yeteneklerinin belirlenmesi.....	33
3.2.3.7. İzolatların hidrojen sülfür üretme yeteneklerinin belirlenmesi.....	33
3.2.3.8. İzolatların farklı pH 'larda gelişiminin belirlenmesi	33
3.2.3.9. İzolatların safra tuzu toleranslarının belirlenmesi.....	33
3.2.3.10. İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi	34
3.2.3.11. Arjininden amonyak (NH ₃) oluşturma	34
3.2.3.12. İzolatların Tannaz Aktivitelerinin Test Edilmesi.....	34
3.2.3.13. İzolatların Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi..	34
3.2.3.14. İzolatların Bakteriyosin Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi.....	35
3.2.3.15. İzolatların D (-), L (+) ve DL Laktat Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi..	35
3.2.3.16. İzolatların Tutunma Özelliklerinin Test Edilmesi.....	35
3.2.3.17. İzolatların Antibakteriyel Aktivitelerinin Test Edilmesi	36
3.2.3.18. İzolatların Dondurmaya ve Liyofilizasyona Dayanıklılıklarının Test Edilmesi	36
3.2.4. Probiyotik Gilaburu Suyu Üretimi ve Yapılan Analizler.....	37
3.2.4.1. Probiyotik gilaburu suyu üretimi	37
3.2.4.2. Fizikokimyasal analizler	38
3.2.4.2.1. Suda çözünür katı madde (Briks)	38
3.2.4.2.2. pH.....	38
3.2.4.2.3. Asitlik (%)	38
3.2.4.2.4. İndirgen şeker	38
3.2.4.2.5. Protein	38
3.2.4.2.6. Kül.....	38
3.2.4.2.7. Ham selüloz	38
3.2.4.2.8. Yağ	38
3.2.4.2.9. Etil alkol	38
3.2.4.3. Biyoaktif özellik analizleri.....	39
3.2.4.3.1. Askorbik asit.....	39
3.2.4.3.2. Toplam fenolik madde	39
3.2.4.3.3. Antioksidan aktivite	39
3.2.3.3.4. Serbest radikal temizleme aktivitesi (Antiradikal aktivite).....	39
3.2.4.4. Duyusal analizler.....	39
3.2.4.5. Mikrobiyolojik analizler ve laktik asit bakterilerinin izolasyonu	39
3.2.4.5.1. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı (TMAB).....	39
3.2.4.5.2. Asidofilik sporlu bakteri (<i>Alicyclobacillus</i> spp.) sayımı.....	39
3.2.4.5.3. Laktik asit bakteri (LAB) sayımı	39
3.2.4.6. Uçucu aroma analizi	40
3.2.4.7. Fenolik asit ve flavonoidlerin analizi	40
3.2.4.8. Antosiyanin analizi.....	40
3.2.4.9. İstatiksel analizler.....	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. Piyasadan Toplanan ve Kontrollü Şartlar Altında Fermente Edilen Gilaburu Suyu Örnekleri Sonuçları.....	41
4.1.1. Fizikokimyasal Analiz Sonuçları.....	41
4.1.2. Biyoaktif Özellikleri	43

4.1.3. Gilaburu Sularının Fenolik Asit ve Flavonoid Miktarları.....	46
4.1.4. Gilaburu Sularının Uçucu Aroma Özellikleri	54
4.1.5. Gilaburu Örneklerinden İzole Edilen ve Tanımlanan LAB'nin Probiyotik ve Fonksiyonel Özellikleri	65
4.2. LAB İle Üretilen Gilaburu Suyu Örneklerinin Analiz Sonuçları	74
4.2.1. Fizikokimyasal Özellikleri.....	74
4.2.2. Probiyotik Gilaburu Örneklerinin Biyoaktif Özelliklerini Gösteren Analiz Sonuçları.....	77
4.2.3. Probiyotik Gilaburu Örneklerinin Duyusal Analiz Sonuçları.....	79
4.2.3. Probiyotik Gilaburu Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	81
4.2.4. Probiyotik Gilaburu Örneklerinin Uçucu Aroma Bileşenleri	82
4.2.5. Probiyotik Gilaburu Örneklerinin Fenolik Asit ve Flavonoid Miktarları.....	88
4.2.6. Probiyotik Gilaburu Örneklerinin Antosiyanin Miktarları	88
6. SONUÇ VE TARTIŞMA	91
6.1. Çalışma Sonucunda Aşağıdaki Öneriler Yapılabilir:	94
6. REFERANSLAR.....	96

Tablo Listesi

Tablo 3. 1. Fenolik asit ve flavonoidler için UFLC 'de uygulanan dereceli elüsyon programı	27
Tablo 3. 2. Antosiyaninler için UFLC 'de uygulanan dereceli elüsyon programı.....	29
Tablo 3. 3. Probiyotik gilaburu üretiminde kullanılan LAB kombinasyonları.....	37
Tablo 4. 1. Kayserinin farklı bölgelerinden toplanan taze gilaburu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri	41
Tablo 4. 2. Kayserinin farklı bölgelerinden taze olarak toplanan ve laboratuvar şartlarında fermente edilen gilaburu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri.....	42
Tablo 4. 3. Kayserinin farklı bölgelerinden fermente edilmiş olarak toplanan gilaburu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri.....	42
Tablo 4. 4. Kayserinin farklı bölgelerinden toplanan taze gilaburu örneklerinin biyoaktif özellikleri	43
Tablo 4. 5. Kayserinin farklı bölgelerinden taze olarak toplanan ve laboratuvar şartlarında fermente edilen gilaburu örneklerinin biyoaktif özellikleri.....	43
Tablo 4. 6. Farklı yerlerden fermente olarak temin edilen gilaburu örneklerinin biyoaktif özellikleri	44
Tablo 4. 7. Fermente gilaburu örneklerinin duyuşal özellikleri.....	45
Tablo 4. 8. Fermente gilaburu örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri (log kob/mL).....	46
Tablo 4. 9. Fermente gilaburu suyu örneklerinin fenolik asit ve flavonoid miktarları (µg/ml).....	53
Tablo 4. 10. Fermente gilaburu suyu örneklerinin antosiyanin miktarları (µg/ml).....	54
Tablo 4. 11. Gilaburu suyu örneklerinin uçucu aroma bileşenleri (%)	56
Tablo 4. 12. Tanımlama sonunda elde edilen izolat sayısı, oranları ve bulunduğı örnek sayısı	60
Tablo 4. 13. Gilaburu örneklerinde tanımlanan LAB izolatları ve sayıları.....	61
Tablo 4. 14. Gilaburu örneklerinden tanımlanan LAB türleri	62
Tablo 4. 15. Probiyotik ve fonksiyonel özellikleri test edilen LAB	66
Tablo 4. 16. Probiyotik gilaburu suyu üretimi için seçilen LAB türleri ve bazı biyokimyasal özellikleri	67
Tablo 4. 17. LAB 'nin bazı probiyotik ve teknolojik özellikleri	68
Tablo 4. 18. LAB 'nin bazı probiyotik ve teknolojik özellikleri	69
Tablo 4. 19. LAB 'nin antibiyotik duyarlılıkları (zon çapı, mm)	70
Tablo 4. 20. Probiyotik gilaburu suyu üretimi için seçilen LAB türleri ve bazı probiyotik ve teknolojik özellikleri.....	72
Tablo 4. 21. LAB 'nin Antibakteriyel Aktiviteleri (inhibisyon zonu çapı, mm)	73
Tablo 4. 22. Bazı LAB izolatlarının dondurarak kurutmaya dayanıklılığı.....	74
Tablo 4. 23. LAB ilaveli gilaburu suyu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri.....	75
Tablo 4. 24. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin biyoaktif özellikleri.....	78
Tablo 4. 25. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin duyuşal analiz sonuçları	80
Tablo 4. 26. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin mikrobiyolojik özellikler.....	82
Tablo 4. 27. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin 0. gün belirlenen aroma bileşenleri.....	83
Tablo 4. 28. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin 15. gün belirlenen aroma bileşenleri.....	85
Tablo 4. 29. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin 30. gün belirlenen aroma bileşenleri.....	86
Tablo 4. 30. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin 60. gün belirlenen aroma bileşenleri.....	87
Tablo 4. 31. Probiyotik gilaburu örneklerinin fenolik asit ve flavonoid miktarları (µg/ml)	89
Tablo 4. 32. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin antosiyanin miktarları (µg/g).....	90

Şekil Listesi

Şekil 2. 1. <i>Viburnum opulus</i> L. Bitkisinin Çiçekli Dönemdeki Görünümü.....	7
Şekil 2. 2. <i>Viburnum opulus</i> L. Bitkisinin Olgun Meyveli Dönemdeki Görünümü	8
Şekil 3. 1. Gilaburu meyvesinin fermente edildiği ortam ve şartları	16
Şekil 3. 2. Fenolik asit ve flavonoid standartlarına ait 280 nm'deki kromatogramı.....	26
Şekil 4. 1. F6 kodlu fermente gilaburu suyunun fenolik asit ve flavonoid içeriklerine ait 280, 320 ve 360 nm dalga boylarındaki kromatogramlar	48
Şekil 4. 2. F11 kodlu fermente gilaburu suyunun fenolik asit ve flavonoid içeriklerine ait 280, 320 ve 360 nm dalga boylarındaki kromatogramlar	49
Şekil 4. 3. F18 kodlu fermente gilaburu suyunun fenolik asit ve flavonoid içeriklerine ait 280, 320 ve 360 nm dalga boylarındaki kromatogramlar	50
Şekil 4. 4. Siyanidin standartının (A), hidroliz olmuş antosiyaninin (B) (hidrolize olmamış antosiyanin (1), hidrolize olmuş antosiyanin (2)) ve F17 kodlu fermente gilaburu suyunun antosiyaninin (C) kromatogramları	51
Şekil 4. 5. Siyanidin standardının (A) ve F17 kodlu fermente gilaburu suyu örneğinin (B) spekturumları	52
Şekil 4. 6. F8, F9, F11 ve F19 kodlu fermente gilaburu sularına ait GC-MS kromatogramları	55

ÖZET

Bu projede toplam 20 adet geleneksel fermente gilaburu örneğinin, fizikokimyasal, biyoaktivite, mikrobiyolojik, fenolik asit, flavonoid ve antosiyanin içerikleri ile aroma ve duysal özellikleri belirlenmiştir. Yine bu örneklerden laktik asit bakterileri (LAB) izole edilerek PCR kullanılarak genotipik olarak tanımlanmıştır. Daha sonra bu izolatların teknolojik, fonksiyonel ve probiyotik özellikleri belirlenerek, teknolojik ve probiyotik özellikleri en iyi olan 3 farklı izolat (*Lb. plantarum* G19e, *Lb. brevis* G15a ve *Lb. casei* G20a) probiyotik gilaburu suyu üretiminde kullanılmıştır. Son aşamada ise, üretilen gilaburu sularının fizikokimyasal, biyoaktif, mikrobiyolojik ve duysal özellikleri ile fenolik asit, flavonoid, antosiyanin ve aroma içerikleri tespit edilmiştir.

Geleneksel fermente gilaburu örneklerinin biyoaktivitelerinin yüksek olduğu ve duysal olarak panelistler tarafından beğenildiği saptanmıştır. Bu örneklerin LAB sayılarının 3.92-8.44 log kob/ml arasında olduğu, fenolik bileşenlerden major bileşenin klorojenik asit, antosiyanin bileşenlerinin sadece siyanidin glikozit ve major aroma bileşenlerinin ise etil asetat, isovalerik asit, butirik asit, etil propiyonat, 2- oktanon, etil alkol ve 2-oktanol olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmanın ikinci aşamasında fermente gilaburu örneklerinden, genotipik yöntemlerle 12 farklı LAB türüne ait toplam 332 izolat elde edilmiş ve bu izolatların *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. brevis*, *Leu. mesenteroides*, *Lb. hordei*, *Lb. paraplantarum*, *Lb. coryniformis*, *Lb. buchneri*, *Lb. parabuchneri*, *Lb. pantheris*, *Leu. pseudomesenteroides* ve *Lb. harbinensis* olduğu saptanmıştır. Bu izolatlardan major LAB 'nin; *Lb. plantarum* (173 izolat), *Lb. casei* (52 izolat) ve *Lb. brevis* (24 izolat) olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlardan yüksek dilüsyonlardan en fazla izole edilen 40 izolatin; pH geliştirme, H₂S üretme, safra tuzu ve antibiyotik dirençleri, tannaz aktiviteleri, tutunma özellikleri, H₂O₂, antimikrobiyal madde ve bakteriyosin üretmeleri ile liyofilizasyona dirençlerine bakılarak teknolojik ve probiyotik özellikleri belirlenmiştir.

Teknolojik ve probiyotik özelliği iyi olan *Lb. plantarum* G19e, *Lb. brevis* G15a ve *Lb. casei* G20a seçilerek gilaburu suyu üretiminde kullanılmıştır. Probiyotik gilaburu suyu örnekleri duysal olarak daha fazla beğenilmiş, major uçucu aroma bileşeninin limonen (yaklaşık %70-

90 arasında) olduğu, major fenolik bileşenin klorojenik asit olduğu ve antosiyanin olarak siyanidin glikozit bulunduğu tespit edilmiştir.

Bu proje sonucunda elde edilen gilaburu suyuna has LAB izolatlarının; probiyotik gilaburu suyu üretiminde, geleneksel ürünü standardize ederek tüketime uygun standart gilaburu suyunun modern teknoloji ile üretiminde ve fonksiyonelliği artmış bir probiyotik meyve suyunun eldesinde kullanılabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gilaburu, *Viburnum opulus* L., PCR ile laktik asit bakterilerinin tanımlanması, fermentasyon, probiyotik özellikler, probiyotik gilaburu suyu üretimi.

ABSTRACT

In this project, physicochemical, bioactivity, microbiological, phenolic acid, flavonoid anthocyanin content, aroma profile and sensory properties of totally 20 traditional fermented gilaburu samples were investigated. Additionally, lactic acid bacteria (LAB) were isolated from these samples and they were identified genotypically using PCR. After the determination of technological, functional and probiotic properties of these isolated bacteria, the best three different isolates (*Lb. plantarum* G19e, *Lb. brevis* G15a ve *Lb. casei* G20a) which have the best technological and probiotic properties were used in the manufacturing of gilaburu juice. In final period, physicochemical, bioactivity, microbiological, sensory properties, phenolic acid, flavonoid and anthocyanin contents and aroma profile were investigated.

It was concluded that the traditional fermented gilaburu juice samples had high bioactivity and their sensory properties were accepted by panelists. In addition to that, it was determined that the LAB count of these samples were in the range of 3.92-8.44 log cfu/ml and chloreogenic acid was the major phenolic compound, cyanidin glycoside was the major anthocyanin compound and ethyl acetate, isovaleric acid, butyric acid, ethyl propanoate, 2-octanone, ethy alcohol and 2-octanol were the major volatile compound in the gilaburu juice samples.

In the second part of the current study, totally 332 isolates from 12 different LAB species were obtained with genotypic methods from traditional fermented gilaburu juice and these isolates were identified to be *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. brevis*, *Leu. mesenteroides*, *Lb. hordei*, *Lb. paraplantarum*, *Lb. coryniformis*, *Lb. buchneri*, *Lb. parabuchneri*, *Lb. pantheris*, *Leu. pseudomesenteroides* and *Lb. harbinensis*. It was also found that the major LAB were composed by *Lb. plantarum* (173 isolates), *Lb. casei* (52 isolates) and *Lb. brevis* (24 isolates). With the investigation of pH improvement ability, production of H₂S, resistance to bile salt and antibiotics, tannase activity, adsorption ability, production ability of H₂O₂, antimicrobial agent and bacteriosin and resistance to lyophilization process, their technological and probiotic properties were characterized.

Lb. plantarum G19e, *Lb. brevis* G15a and *Lb. casei* G20a which have the desired technological and bioactivity properties were used in the gilaburu juice production. Probiotic

gilaburu juice samples were liked as sensorial and in these products, limonene as a major volatile compound (approximately 70-90%), chlorogenic acid as a major phenolic compound and cyanidin glycoside as an anthocyanin compound were determined.

It was concluded that the LAB isolates which are pertinent to gilaburu juice could be used in probiotic gilaburu juice, standardized and suitable for consumption gilaburu juice with modern technology and gilaburu juice enhanced functionality.

Key words: Gilaburu, *Viburnum opulus* L., identification of lactic acid bacteria by PCR, fermentation, probiotic properties, production of probiotic gilaburu juice

1. GİRİŞ

Gilaburu (*Viburnum opulus* L.), Adoxaceae familyasına ait, kökeni Avrupa, Kuzey Afrika ve Kuzey Asya'ya dayanan, dünyanın hemen her yanında dekoratif amaçlı olarak kullanılan bir çalı bitkisinin meyvesidir. Dünyada bu bitki European cranberrybush, American cranberrybush, cranberry tree, guelder rose, wild guelder rose, gueldres-rose, cherry-wood, rose elder, snowball bush, crampbark tree ve whitten tree gibi alternatif isimlerle, Türkiye'de ise bölgeden bölgeye değişen gilaburu, gilaboru, gileboru, gileburu, girabolu, girebolu ve gili gibi adlarla anılmaktadır. Gilaburu, Türkiye'de başta Kayseri olmak üzere, Konya, Bursa, Sakarya, Ankara, Tokat, Sivas, Trabzon, Çorum, Maraş, Kırşehir, İstanbul, İzmir, Erzurum ve Samsun illerinde doğal olarak yetişmektedir. Genellikle, sulak yerlerde ve su kenarlarında yetişen gilaburu bitkisinin kabuk ve meyveleri, farmakolojide geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Kabuklarının güçlü antispazmodik etkisi, menstrüal ve mide krampları ile astıma karşı iyileştirici özelliği, Avrupa, Amerika ve Asya insanı tarafından ayrı ayrı keşfedilmiştir. Türkiye'de de gilaburu meyvesinin farmakolojik ve besinsel özellikleri hakkında pek çok inanış olmakla beraber, bu konularda yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır (ANONİM, 2003; AKSOY ve ark., 2004; ANONİM, 2008).

Türkiye'nin çeşitli illerinde doğal olarak yetişen ve yabani bir meyve olan gilaburunun kullanımı, Kayseri, Sivas, Tokat ve Konya yöresi dahil bazı bölgelerde, meyvenin çeşme suyu içinde 3-5 ay süreyle fermentasyonu ardından ezilerek elde edilen suyunun içilmesi ile sınırlı olmakta, bazı yörelerde ise sadece halk ilacı şeklinde kısıtlı bir şekilde değerlendirilmektedir. Son yıllarda Kayseri'de bazı endüstriyel meyve suyu üreten fabrikaların, gilaburu suyunun sağlık üzerine olumlu etkisinden dolayı pastörize gilaburu suyu üretimine geçtiği ve mevcut üretiminde yoğun tüketici talebini karşılayamadığı bilinmektedir. Gilaburu ile ilgili yapılmış resmi bir istatistik bulunmamasına karşın, edinilen bilgiye göre, birkaç firma tarafından son yıllarda üretilen pastörize gilaburu suyunun, üretimden kısa bir süre sonra tüketildiği, meyve mevsiminin dışında taleplerin karşılanamadığı, bunun nedenin de ihtiyacı karşılayacak kadar meyve üretiminin olmadığı şeklinde açıklanmaktadır. Bundan dolayı son yıllarda gilaburu ekim alanlarının genişletilmesi yönünde çalışmalar yapılmaktadır. Pastörize gilaburu suyu, içerisindeki yoğun fenolik maddelerden dolayı elbette fonksiyonel bir üründür. Fakat yüzyıllardır yapılan geleneksel üründe 3-4 aylık bir fermentasyon süresi mevcuttur ve burada birtakım fermentasyon mikroorganizmaları görev almaktadır. Oysa pastörize gilaburu suyu,

teknolojiye aktarımıyla geleneksel fermente gilaburu suyunun duyuşsal özelliklerini ve biyolojik yapısını tam olarak yansıtmamaktadır. Yetiştiiği bölgelerde gilaburu meyvesinin böbrek, karaciğer, safra, rahim, mide ve bağırsak rahatsızlıklarına karşı iyi geldiğine, tansiyon düzenleyici olduğuna, kalp damar hastalıklarını iyileştirici etkileri bulunduğuna dair (bilimsel çalışmalarla desteklenmemiş olsa da) yaygın bir inanış bulunmaktadır. Ancak, bu yararların meyvenin sadece kimyasal özelliklerinden kaynaklandığı düşünölmekte, meyvenin fermentasyonu sırasında görev alan fermentasyon mikroflorasının yararları hiç hesaba katılmamaktadır. Üstelik bu meyve ve özellikleri ile ilgili, bazıları araştırma grubumuza ait olmak üzere çok az sayıda araştırma yapılmış olup, taze meyve ile fermente meyvenin özelliklerini karşılaştıran, fermente meyvelerde fermentasyon etmeni mikroorganizmaları belirleyerek tanımlayan ve biyolojik yararlılığını kanıtlayan çalışmalar bulunmamaktadır.

Beslenme ve sağılık arasındaki ilişkinin bilimsel kanıtlarının her geçen gün artması sonucu, gıda konusunda çalışan araştırmacılara ve sektördeki sanayicilere fonksiyonel ürün çeşitliliğini arttırmak konusunda büyük sorumluluklar düşmektedir. Fermente ürünler, probiyotik ve prebiyotik özellikteki gıdalar, tüketimleri sağılıkla en fazla ilişkilendirilen “fonksiyonel gıda” kapsamına dahil ürün gruplarıdır.

Sonuç olarak bu çalışmanın amacı, şu an sadece geleneksel olarak sınırlı bir bölgede ve bazı evlerde hazırlanıp tüketilen fermente gilaburu suyundan, fermentasyon etmeni laktik asit bakterilerini izole etmek ve modern biyoteknolojik yöntemlerle tanımlamak, taze ve fermente ürünlerdeki fizikokimyasal özellikleri tespit ederek karşılaştırmak, PCR ile tanımlanan laktik asit bakterilerinin probiyotik özelliklerini belirlemek ve bu özellikleri yüksek olan izolatları pastörize gilaburu suyuna inoküle ederek endüstriyel boyutta standart fermente gilaburu suyu üretme olanaklarını ortaya koymaktır. Böylece, gıda sektöründe muhtemel “probiyotik özelliklere sahip laktik asit bakterisi içeren fonksiyonel meyve bazlı içecek” olarak nitelenebilecek, patent alma potansiyeli de bulunan yeni ve fonksiyonel bir ürün gıda sanayine kazandırılarak tüketiminin yaygınlaşmasına katkıda bulunulacaktır. Ayrıca proje sonuçları ile gilaburu yetişen bölgeler için de bir ekonomik katma değer sağılanma şansı olabilecektir. Dolayısıyla, bu araştırma bulgularının, hem gilaburu yetiştiren bölgeler veya meyve suyu üreticileri için ve hem de sağılıklı içecek alternatifi arayan tüketiciler için önemli bir veri oluşturması ve bu kapsamda yapılacak yeni araştırmalara yön vermesi beklenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

Viburnum opulus L., daha önce Caprifoliaceae familyasına dahil edilmiş olmakla birlikte, son olarak Adoxaceae familyasına ait olarak kabul edilen, ortalama 3-4 m yüksekliğinde, küçük yayılmış ağaç ya da büyük çalı görünümünde hızlı büyüyen yıllık bir bitkidir (ANONİM, 2013a, 2013b, 2013c, 2013d). Tamamen veya kısmen güneşli yerlerde ve nemli, iyi drene edilmiş topraklarda kolay yetişir. Her yıl dökülen yaprakları, karşılıklı, oval, 5-12 cm uzunluğunda, kenarı geniş tırtıllı, derinliğine 3 lobludur. Mayıs sonunda çiçeklenen bitki, Haziran başlarında 7-10 cm genişliğinde düz tepeli kümeler halinde beyaz çiçekler açar (Şekil 2.1). Ağustos sonunda meyvelenme başlar ve önce yeşil olan ham meyveler, olgunlaştıkça parlak kırmızı ve göz alıcı bir görünüm kazanır (ANONİM, 2013e) (Şekil 2.2).



Şekil 2. 1. *Viburnum opulus* L. Bitkisinin Çiçekli Dönemdeki Görünümü



Şekil 2. 2. *Viburnum opulus* L. Bitkisinin Olgun Meyveli Dönemdeki Görünümü

Viburnum opulus L. bitkisinin kökeni Avrupa, Kuzey Afrika ve Kuzey Asya'ya dayanır ve daha çok süs bitkisi olarak bilinir. İngilizce'de American cranberrybush, cranberry tree, crampbark tree, guelder-rose, wild gueldes-rose, gueldres-rose, cherry-wood, rose elder, red elder, marsh elder, water elder, white elder, gadrise, gaiter tree, gatten, love rose, May rose, pincushion tree, dog rowan tree, whitten tree, squaw bush, witch-hobble, witchhopple gibi alternatif isimlerle tanınır (ANONİM, 2013f). Türkiye'de Kayseri, Konya, Bursa, Sakarya, Ankara, Tokat, Sivas, Trabzon, Çorum, Maraş, Kırşehir, İstanbul, İzmir, Erzurum ve Samsun illerinde doğal olarak yetişen bitki, gilaburu, gülabba, gilaboru, gilebolu, geleboru gileburu, gilabba, gilabala, giraboğlu ve giligili gibi bölgeden bölgeye değişen farklı isimlerle bilinir (BOLAT ve ÖZCAN, 1995; ÖZER ve KALYONCU, 2007).

Gilaburu meyvesinin, yaprağının ve kabuğunun antioksidan, antienflamatuar, antibakteriyel, analjezik, diüretik gibi biyolojik özellikleri uzun yıllardır bilinmekte ve geleneksel olarak hem Türkiye'de hem de yetiştiği diğer ülkelerde tıbbi bir bitki olarak kullanılmaktadır. Özellikle son yıllarda yoğunlaşmak üzere, gilaburunun kimyasal bileşimini açığa kavuşturmaya ve biyolojik faydalarını kanıtlamaya yönelik çeşitli araştırmalar mevcuttur.

Konya'da yapılan bir çalışmada (BOLAT ve ÖZCAN, 1995), taze ve beş ay süre ile su içinde muhafaza edilen gilaburu meyvelerinin sularında fermentasyon sürecinin başında, ortasında ve sonunda çeşitli kimyasal analizler yapılmıştır. Üç dönemde yapılan analiz sonuçlarında,

sırasıyla, pH 3.24, 3.09, 3.20; asitlik 1.57, 1.46, 1.59; yüzde çözünür kuru madde 7.81, 6.97, 6.89; yüzde indirgen şeker 5.83, 4.43, 3.97; askorbik asit 560, 380, 362 mg/kg olarak kaydedilmiştir.

Kayseri’de yapılan bir çalışmada da (SOYLAK ve ark, 2002), 5 farklı bölgeden toplanan gilaburu meyveleri, geleneksel olarak yapıldığı gibi üç ay boyunca su içinde bekletilmiş ve süre sonunda gilaburunun preslenmesi ile elde edilen meyve suyunda pH değerleri, 2.8-3.1 arasında, askorbik asit miktarları ise 308-661 mg/L arası bulunmuştur. Ayrıca, meyve sularında klorür iyonları, sodyum, potasyum, kalsiyum ve magnezyum miktarları, sırasıyla, 425.4-638.1, 216.6-271.5, 37.7-44.5, 3.65, 4.30, 10.88-14.41 mg/L arasında tespit edilmiştir.

Kurutulmuş gilaburu ekstraktının antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerinin tanımlandığı çalışmada (SAGDIC ve ark., 2006), %2, 5, 10 ve 15 konsantrasyonlarında kurutulmuş gilaburu ekstraktının toplam 10 adet patojen ve bozulma etmeni bakteriye (*Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium* ve *Staphylococcus aureus*) karşı agar difüzyon metodu ile antibakteriyel aktivitesi test edilmiş ve %10 ile %15’lik konsantrasyonların, test edilen tüm bakterilere karşı inhibisyon etkiye sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca, kuru meyve ekstraktının toplam fenolik madde miktarı 131.99 mg GAE/g, antioksidan aktivitesi ise 315.50 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile gilaburu suyunun organik asit ve fenolik bileşiklerinin çalışıldığı araştırmada (ÇAM, 2005), litrede 9.422 g L-malik asit, 0.573 g okzalik asit, 0.095 g tartarik asit, 0.736 g L-askorbik asit tespit edilmiştir. Ayrıca, klorojenik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, mirisetin, kafeik asit ve *p*-kumarik asit bileşikleri sırasıyla 798.81, 92.10, 35.97, 26.22, 3.38 mg/L olarak bulunmuştur.

Gilaburu meyvesinin etininin ve çekirdeğinin organik asit, fenolik, toplam flavonoid ve toplam antosiyanin içeriklerinin tespit edildiği çalışma (CAM ve ark., 2007) sonucunda ise, meyve çekirdeğinin, meyve etinin yaklaşık 4 katı daha fazla toplam fenolik madde içerdiği ve yaklaşık 10 katı daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca, meyve etinde ve çekirdeğinde sırasıyla pH 2.95, 5.19; mg/100 g numunede toplam titre edilebilir asitlik malik asit cinsinden 1712.85, okzalik asit cinsinden 194.59; nem 89.16, 9.31; kuru maddede yağ 1.92, 13.88; kül 0.38, 1.68 olarak tespit edilmiştir.

ELMASTAŞ ve GERÇEKÇİOĞLU (2006), gilaburu, ahududu, mürver ve kuşburnu meyvelerinin etanol ekstraksiyonu ile elde edilen ham ekstraktlarında antioksidan aktivite, serbest radikal temizleme aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi, toplam fenolik madde ve askorbik asit analizleri yapmışlar ve elde edilen sonuçları, standart antioksidan olarak bilinen α -tokoferol, bütillenmiş hidroksi tolueen ve bütillenmiş hidroksi anisole sonuçları ile karşılaştırmışlardır. Araştırma verileri, kuşburnunun 7.3, ahududunun 13.5, mürverin 14.6, gilaburunun 22.9 μ g GAE toplam fenolik madde içerdiğini ve serbest radikal giderme aktivitesinin (%78.2) ve metal şelatlama aktivitesinin (%84.2) de diğer test edilen meyvelerden ve α -tokoferol, bütillenmiş hidroksi tolueen ve bütillenmiş hidroksi anisole daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Analize alınan gilaburu, ahududu, mürver ve kuşburnu meyvelerinin 100 g'da mg askorbik asit miktarları, sırasıyla 382.5, 344.3, 221.4 ve 722.5; % toplam antioksidan aktiviteleri, yine sırasıyla 79.3, 83.2, 76.5 ve 75.9 olarak kaydedilmiştir.

Türkiye'de yetişen gilaburu meyvesinin mineral içeriklerini ve bazı bileşen özelliklerini tespit etmeyi hedefleyen bir diğer çalışmada (AKBULUT ve ark., 2008), meyvenin 256.56 kJ/g enerji, 63.46 g/kg indirgen şeker, 64.85 mg/kg protein, 595.24 mg/kg askorbik asit, 3253.87 mg/kg toplam fenolik, 654.23 mg/kg toplam antosiyanin, 6.70 g/kg ham yağ, 180.71 g/kg ham selüloz, 12.83 g/kg kül ve 17.92 g/kg asitlik içerdiği ifade edilmiştir. Polonya'da fitoterapide kullanılan bitkiler arasında bulunan *Viburnum opulus* ve *Sambucus nigra* kabuklarının fenolik asitlerinin tanımlanması için yürütülen çalışmada (TUREK ve CISOWSKI, 2007), *V. opulus* kabuğunda başlıca kafeik asit (667.2 mg/kg), şiringik asit (201.13 mg/kg), 4-hidroksibenzoik asit (195.14 mg/kg), gallik asit (121.32 mg/kg) olmak üzere toplam 11 fenolik asit türevi bulunmuştur.

V. opulus'un da dahil olduğu bir grup yabani bitki meyvesinde yapılan bir çalışmada (DEINEKA ve ark., 2005), meyvelerde siyanidin türevleri ve toplam antosiyanin miktarları tanımlanmış ve taze *V. opulus* meyvesinde 22-29 g/100 g toplam antosiyanin tespit edilmiştir. Ukrayna'da *V. opulus*'da doğal olarak bulunan proantosiyanidin bileşikleri, ratlar üzerinde, 25-75 mg/kg arası değişen dozlarda gastrik lezyonlu bölgelere denenmiştir (ZAYACHKIVSKA ve ark., 2006). Sonuçta, 50 mg/kg proantosiyanidin, endojen nitrik oksit oluşumunu artırarak ve lipid peroksidasyonunu baskılayarak, antioksidan aktiviteyi harekete geçirdiği ve güçlü bir gastroduodenal koruyucu aktivite oluşturduğu gözlenmiştir.

Rusya’da yaygın şekilde tıbbi bir bitki olarak bilinen *V. opulus* ile çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Rus araştırmacılar, *V. opulus* kuru ağaç kabuğunun %30 ve %70 etanol ile hazırlanan ekstraktlarının antioksidan aktivite katsayısını tanımlamış ve %70 etanol ile hazırlanan ekstraktta maksimum aktivite (181.52 mL/g) tespit etmişlerdir (ANDREEVA ve ark., 2004). Çalışma sonucuna göre, ağaç kabuğunun %70 etanol ekstraktının etil asetat fraksiyonunda, klorojenik kafeik, p- hidroksibenzoik ve gallik asit gibi fenolik bileşikler bulunduğu ve güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu ifade edilmiştir.

KARIMOVA ve ark. (2000), gilaburu çekirdeklerinden metil ve triterpenil yağ asidi esterlerinin ve triterpenik asitleri izole etmişler ve çekirdek pigmentlerinin antioksidan aktivitesini, protein içeriğini ve biyolojik değerini tanımlamışlardır. Çalışmada, gilaburu çekirdek tozunun alkali ekstraktının %28-29’unun protein olduğu ve 7’si esansiyel olmak üzere 15 amino asit kompozisyonundan oluştuğu tespit edilmiştir. Araştırma sonuçları, gilaburu çekirdeklerinin, lipit, pigment ve protein gibi biyolojik olarak aktif bileşenler yönünden değerli bir kaynak olduğunu ortaya koymuştur. Rusya’da yapılan diğer bir çalışmada (KARIMOVA ve ark., 2004), *V. opulus* meyveleri, çiçeklenmeden 1 ay, 2.5 ay ve 4 ay sonra olmak üzere 3 dönemde farklı toplanmış ve olgunlaşma sürecinde, kuru meyvede nötral ve polar lipitlerin ve lipofilik bileşenlerin kompozisyonundaki değişim incelenmiştir. Olgunlaşma sürecinde, meyve ağırlığı ile birlikte, yağ içeriği ve karotenoid miktarında da artış gözlenmiştir. Birinci dönemde %1.7 olan yağ içeriği, ikinci dönemde %7.0’ye ve üçüncü dönemde %15.4’e yükselmiştir. Hem glikolipit hem de fosfolipit fraksiyonu içinde meyve olgunlaştıkça doymuş yağ asidi oranında azalma doymamış yağ asidi oranında ise artış görülmüştür.

V. opulus meyve çekirdeklerinden elde edilen yağlarda yağ asidi kompozisyonu ve tokoferol analizlerinin yapıldığı araştırmada (YANG ve ark., 2001), %50 linoleik asit, %46 oleik asit, 100 g yağda 110 mg α -tokoferol, 60 mg δ -tokoferol ve 40 mg γ -tokoferol tespit edilmiştir.

Romanya’da Ekim ayında toplanan ve dondurularak muhafaza edilen *V. opulus* meyvelerinin etanol ekstraktları, 4°C’de yaklaşık 1 hafta bekletilmiş ve bu süreçte belli periyotlarla toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir (MOLDOVAN ve ark., 2012a). Çalışma sonuçlarına göre, toplam fenolik madde miktarı 4.22 g GAE/kg donmuş kütle olarak tespit edilmiş ve buzdolabında bekleme süresince toplam fenolik maddede ilk 51

saatte belirgin bir azalma, daha sonra ise hafif bir dalgalanma gözlenmiştir. Antioksidan aktivite ise başlangıçta 7.05 g AAE/ kg donmuş kütle olarak bulunmuş ve depolama boyunca hafif bir iniş-çıkış görülmüştür.

MOLDOVAN ve ark. (2012b), *V. opulus* meyvelerinin su ve etanol ekstraktlarından yapılan antosiyanin miktarlarını karşılaştırmışlar ve farklı sıcaklıklarda (2, 37 ve 75°C) ve farklı pH değerlerinde (pH 3 ve 7) 7 gün depolamanın antosiyanin stabilitesine etkisini araştırmışlardır. En düşük antosiyanin stabilitesinin, su ekstraktında pH 7’de ve 75°C’de depolanan meyve sularında olduğu görülmüş ve antosiyanin degradasyon hızını olabildiğince düşürmek için, ekstraktın sulu ve pH 2-3 gibi asidik bir ortamda buzdolabı sıcaklığında bekletilmesinin uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Litvanya’da yapılan bir çalışmada (ČESONIENĖ ve ark., 2012), seçilen yedi *V. opulus* genotipinin meyve sularında toplam fenolik madde ve toplam antosiyanin analizleri yapılmıştır. Meyve sularının Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenen toplam fenolik madde miktarları, 804.2-1168.8 mg GAE/100 g arasında iken, spektrofotometrik yöntemle belirlenen toplam antosiyanin miktarları, 24.3-51.3 mg/100 g arasında bulunmuştur. Bu çalışmada, ayrıca meyve sularının farklı insan patojeni bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiş ve *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Agona*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Micrococcus luteus* bakterilerine karşı güçlü inhibisyon etkileri olduğu, *Debaryomyces hansenii* ve *Torulaspora delbrueckii* mayalarının meyve suyuna çok dirençli olduğu, ancak *Trichosporon cutaneum*, *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida parapsilosis* mayalarının meyve suyuna düşük hassasiyet gösterdiği belirlenmiştir.

V. opulus’un aroma profilinin belirlendiği araştırmada (KRAUJALYTE ve ark., 2012), beş bitki türünde, üst katman uçucu maddelerin katı faz mikroekstraksiyonu ardından gaz kromatografisi, kütle spektrometresi ve olfaktometre ile çalışılmıştır. Toplam 41 aroma maddesi tanımlanmış ve tanımlanan uçucu organik bileşiklerin %63.0-71.8’ini 3-metil-butanoik asitin, %28.1-25.6’sını 2-oktanonun oluşturduğu tespit edilmiştir. Meyve sularında 10 koku aktif bileşen ve linalool ve etil dekanot gibi 3-metil-butanoik ve 2-metilbutanoik asitlerin *V. opulus* aroması için başlıca koku aktif bileşenler olduğu anlaşılmıştır.

V. opulus L. ve *V. lantana* L. yapraklarının su ekstraktının antinosiseptif (ağrılı uyarı azaltma) ve antienflamatuvar etkileri, ratlar üzerinde araştırılmıştır (SEVER YILMAZ ve ark., 2007; ALTUN ve ark., 2009). Bu etkileri belirlemek için, denek hayvanları, sadece izotonik tuz çözeltisinin verildiği kontrol grubu, etken madde içeren ilaçların verildiği referans grubu ve yaprakların sulu ekstraktlarının verildiği test grubu olmak üzere başlıca üç gruba ayrılmış ve deneklere kuyruğa vuruş testi, asetik asit tarafından indüklenen ağrıdan kıvrınma testi ve karagenan tarafından indüklenen ayak ödemi testi uygulanmıştır. Bulgular, her iki yaprak ekstresinin de, ratlarda asetik asitin indüklediği abdominal kasılmayı doza bağlı olarak inhibe ettiğini göstermiştir. Aynı zamanda, yaprak ekstrelerinin kuyruk vuruş testi ile ölçülebilir bir antinosiseptif etkisinin olduğu, ancak *V. lantana* yaprak ekstraktının hafif bir antienflamatuvar etkiye sahip olmakla beraber, *V. opulus* yaprak ekstraktının hiç antienflamatuvar etkisinin bulunmadığı anlaşılmıştır.

V. opulus ve *V. lantana* meyve, dal ve yaprakları ile hazırlanan ekstraktların antioksidan özelliklerinin incelendiği bir çalışmada (ALTUN ve ark., 2008), 2.5 mg/mL *V. opulus* dal ekstraktının süperoksit anyonları üzerinde %33 inhibisyon gösterirken aynı konsantrasyonda yaprak ve meyve ekstraktının herhangi bir inhibisyon etkisi gözlenmemiştir. 10 mg/mL *V. opulus* dal, yaprak ve meyve ekstraktları ise, süperoksit anyonlarını sırasıyla %94, %47 ve %81 inhibe etmiştir. Çalışmada, tüm ekstraktların doza bağlı olarak değişmek kaydıyla DPPH radikalleri üzerinde temizleme aktivitesine sahip olduğu, ancak en yüksek etkiyi *V. opulus* dallarından elde edilen ekstraktın gösterdiği, *V. opulus* meyvesinin tüm konsantrasyonlarda *V. lantana* meyvesinden daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu, *V. opulus* dalının çok güçlü ve potansiyel bir doğal antioksidan kaynağı olduğu ortaya konmuştur. *V. opulus* ve *V. lantana* dalları, yaprakları ve meyvelerinin antienflamatuvar bir ajan olan salisin ve fenolik bir bileşen olan klorojenik asit miktarlarının analiz edildiği bir çalışmada (ALTUN ve ark., 2007), *V. opulus* dallarının %1.250 ve meyvelerinin ise %1.266 oranında salisin içerdiği ve iyi birer salisin kaynağı oldukları, *V. opulus* meyvesinin aynı zamanda iyi bir klorojenik asit kaynağı olduğu sonucuna varılmıştır. *V. lantana* dal, yaprak ve meyvelerinin salisin ve klorojenik asit miktarlarının ise *V. opulus*'a kıyasla oldukça düşük olduğu görülmüştür.

Gilaburunun hepatoprotektif (karaciğer koruyucu) ve hipoglisemik (kan şekerini düşürme) etkisi olup olmadığını belirlemeye yönelik yapılan çalışmada (ALTUN ve ark., 2010), hepatoprotektif etki denemesi için oluşturulan altı fare grubunun karın zarı içine, 7 gün

boyunca izotonik tuz çözeltisi (kontrol), zeytinyağı, etanol, silibinin, 1:1 karbonklorür:zeytinyağı ve gilaburu su ekstraktı+1:1 karbonklorür:zeytinyağı; hipoglisemik etki denemesi için oluşturulan üç diyabet fare grubuna oral olarak izotonik tuz çözeltisi (kontrol), glibenclamide ve kg vücut ağırlığına 100 mg gilaburu ekstraktı verilmiştir. Ratlardan alınan kan örneklerinde karaciğer hasarının biyokimyasal parametreleri olarak kabul edilen serum aspartat amino transferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT), alkalın fosfataz (ALP) ve bilirubin konsantrasyonları. Çalışma sonuçları, gilaburunun diyabet ratlarda kan glukoz seviyelerini düşürmediği, ancak karaciğerde daha az balon dejenerasyonu, apoptozis ve sentrilobular nekroz ve silibinin (referans madde) uygulanmış gruba benzer köprüleşme nekrozu gösterdiğini ortaya koymuştur.

Aralarında *V. opulus*'un da bulunduğu Türkiye'de yetişen sekiz yabancı meyvenin hem soğuk hem de sıcak su ve etanol ekstraktları kullanılarak antibakteriyel ve antitümör etkileri denenmiştir (TURKER ve ark., 2012). Disk difüzyon yöntemiyle yapılan antibakteriyel denemelerde, taze meyvenin soğuk etanol ekstraktının *Streptococcus pyogenes*'i ve kuru meyvenin sıcak su ekstraktının *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'i inhibe ettiği ortaya konmuştur. Ayrıca, bitkilerde tümör oluşumuna neden olduğu bilinen Gram-negatif bir bakteri olan *Agrobacterium tumefaciens* kullanılarak yapılan antitümör denemeleri de, gilaburu ekstraktlarının tamamının %66.7 ile %100 arasında değişen oranlarda antitümör etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

ÖZRENK ve ark. (2011), Erzincan'da iki farklı bölgeden toplanan gilaburu meyvelerinde hem, ağırlık, en, boy, pH, toplam kuru madde ve asitlik analizleri yapmışlar, hem de organik asit (tartarik asit, malik asit, suksinik asit, fumarik asit ve asetik asit), fenolik bileşik (gallik asit, kateşin, kafeik asit, şiringik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, o-kumarik asit, protokateşik asit, vanillik asit ve kuersetin), şeker kompozisyonu, vitamin C ve mineral madde (potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir, mangan, çinko ve bakır) içeriklerini ölçmüşlerdir. Gilaburu meyvelerinin tartarik asit içeriği (1.41 g/kg-1.24 g/kg) diğer organik asitlerden, kateşin içeriği ise (284.96 mg/kg-352.04 mg/kg) diğer fenolik bileşiklerden daha yüksek bulunmuştur. Kromatografik yöntemle analize alınan 2 farklı grup gilaburu numunesinde 100 gramda 2.346 g ve 2.421 g glukoz, 1.597 g ve 1.675 g fruktoz bulunurken, 33.432 mg ve 32.761 mg vitamin C tespit edilmiştir.

V. opulus'un kabuğunun etanol:etil asetat (1:1) ile sirkülasyonlu ekstraksiyonu ve %1 asetik asetik çözeltisi ile elektroekstraksiyonu sonucu elde edilen iki ekstraktın antioksidan aktivitesine ve toplam fenolik madde miktarına ekstraksiyon yönteminin etkisi araştırılmıştır (GRİBOVA ve ark., 2008). Sonuçta, sirkülasyonlu ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktın elektroekstraksiyon ekstraktına göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu, elektroekstraksiyon öncesi kabuğun öğütülmesi işleminin, antioksidan aktivite ve fenolik madde miktarının yaklaşık iki kat fazla bulunmasına sebep olduğu görülmüştür. Farklı 12 genotipteki *V. opulus* meyvelerinin araştırmaya alındığı çalışmada(ÇESONIENË ve ark., 2010), toplam fenolik madde, toplam antosiyanin, askorbik asit, titre edilebilir asitlik, karotenoid, indirgen şeker ve toplam çözünür katı madde miktarları analizleri yapılmış ve sırasıyla 753-1460 mg/100 g; 23.2-44.6 mg/100 g; 12.4-41.4 mg/100 g; %1.9-3.9; 1.4-2.8 mg/100 g; %5.6-8.8 ve %9.0-13.5 olarak tespit edilmiştir.

V. opulus cinsi içinde üç farklı kültür bitkisinin meyvelerinde yapılan çalışmada (ROP ve ark., 2010), taze meyvelerin toplam fenolik madde miktarları 6.80-8.29 g GAE/kg arasında, DPPH testi ile ölçülen toplam antioksidan aktiviteleri 8.55-9.79 g AAE/kg, flavonoid miktarları 3.14-4.89 g/kg arasında ve vitamin C değerleri 1.01-1.64 g/kg arasında kaydedilmiştir. Ayrıca meyvelerin farklı reaktif oksijen türlerine (nitrik oksit, süperoksit anyon, hidroksil radikalleri, lipid peroksidasyonu) karşı temizleme aktiviteleri de %11.51-28.50 arasında değişen miktarlarda tespit edilmiştir. *V. opulus* meyvelerinin eter ekstraktlarında farmasötik öneme sahip ve düşük dozlarda dahi sağlığa yararlı etkileri olduğu bilinen polifenoller, steroller ve yağ asitleri tespit edilmiştir (CHIRIGIU ve ark., 2012). Kafeik asit, kumarik asit, ferulik asit, kuersetol, hidroksisinamik asit, kamferol miktarları, sırasıyla 5.63, 5.02, 7.25, 7.16, 0.86, 1.74 µg/mg olarak belirlenmiştir. PAL ve ark. (2013), *Viburnum* cinsi içinde yer alan *Viburnum betulifolium* yapraklarından ekstrakte edilen esansiyel yağları tanımlamışlar ve bunların *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans*'a karşı iyi bir inhibitör aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Proje kapsamında materyal olarak Kayseri ili ve civarı ilçelerinde yetişen gilaburu örnekleri kullanılmıştır. Bu projede gilaburu örnekleri 2 grup halinde çalışılmıştır. Bu amaçla ilk grup örnekleri olarak; Güneşli, Hisarcık, Bünyan, Gesi, Develi, Mimarsinan, Akkışla, Kızık, Sarioğlan ve Pınarbaşı olmak üzere Kayseri ve civarındaki 10 farklı bölgeden taze gilaburu örnekleri hasat mevsimi olan Ekim - Kasım 2010 tarihlerinde toplanmıştır. Bu taze gilaburu numunelerinden bir kısmı, ilk aşama analizlerini yapmak için ayrılırken, kalan kısım ise laboratuvar şartlarında (oda sıcaklığında) 4 ay süre ile geleneksel yöntemle fermentasyona bırakılmıştır. Gilaburu örnekleri aşağıdaki Şekil 3.1’ de gösterildiği gibi geleneksel uygulamalara uygun şekilde 16.6 ile 19°C arasında ve %51-54 nisbi nemde fermente edilmiştir. İkinci grup numuneleri olarak yine 10 farklı bölgeden (Güneşli, Hisarcık, Bünyan, Gesi, Develi, Yahyalı, Akkışla, Kızık, Sarioğlan ve Pınarbaşı) evlerde geleneksel olarak fermente edilmiş gilaburu örnekleri toplanmıştır.



Şekil 3. 1. Gilaburu meyvesinin fermente edildiği ortam ve şartları

3.2. Yöntem

3.2.1. Piyasadan toplanan ve kontrollü şartlar altında fermente edilen gilaburu suyu örneklerinde yapılan analizler

3.2.1.1. Fizikokimyasal Analizler

3.2.1.1.1. Suda çözünür katı madde (Briks)

Numunelerin çözünür katı maddeleri, TS 4890 Meyve ve Sebze Mamulleri-Çözünür Katı Madde Miktarı Tayini standardı esas alınarak dijital refraktometre (Labart WYA-2S Abbe, Çin) ile ölçülmüştür (ANONİM, 1986a).

3.2.1.1.2. pH

Numunelerin pH değeri, standart tampon çözeltileri ile pH metre (WTW Inolab 720, Almanya) kalibre edildikten sonra pH metre elektrodu 22±2°C'deki numune içine direk daldırılarak ölçülmüştür (ANONİM, 2001b)

3.2.1.1.3. Asitlik (%)

Asitlik tayini için, gilaburu suyu numunesinden 25 g alınarak 250 ml'lik ölçülü balona aktarılmış, balon işaretine kadar damıtık su ile tamamlanmış ve karıştırılmıştır. Bu şekilde hazırlanan analiz çözeltilerinden 25 ml alınarak %1'lik fenolftalein indikatör çözeltisi eşliğinde 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisi ile titrasyon yapılmıştır. Asitlik, aşağıdaki formül yardımıyla laktik asit cinsinden % olarak hesaplanmıştır (ANONİM, 2002a).

$$\% \text{ Asitlik (laktik asit cinsinden) } = (S \times N \times F \times V_1 \times 0.09 \times 100) / V_2 \times V_0$$

S: Titrasyonda harcanan sodyum hidroksit çözeltisinin hacmi, ml

N: Titrasyonda harcanan sodyum hidroksit çözeltisinin normalitesi

F: Titrasyonda harcanan sodyum hidroksit çözeltisinin faktörü

V₀: Alınan numune miktarı, g

V₁: Alınan numunenin tamamlandığı hacim, ml

V₂: Titrasyon için alınan numune çözeltisi, ml

0.09: Laktik asitin milieşdeğer gramı

3.2.1.1.4. İndirgen şeker

İndirgen şeker miktarı tayini için, 5 g meyve suyu, 100 ml'lik ölçülü balonda damıtık su ile tamamlanıp karıştırıldıktan sonra süzülerek berraklaştırılmış ve 5 ml Fehling A, 5 ml Fehling B ve 10 ml damıtık su karışımının 2 dakika kaynatılması sonrası %1'lik metilen mavisi indikatörlüğünde berrak meyve suyu çözeltisi ile titre edilmiştir. Numunedeki indirgen şeker miktarı, aşağıdaki formülden hesaplanmıştır (ANONİM, 1992).

$$\text{İndirgen Şeker (g/kg)} = (100 \times F) / (VT \times VN)$$

F: Fehling çözeltilerinin faktörü

VT: Titrasyonda harcanan numune çözeltisinin hacmi, ml

VN: Analiz için alınan numunenin miktarı, g

3.2.1.1.5. Protein

Numunelerin protein tayini için, gilaburu suyu numunesi 420°C'ye ayarlanmış Kjeldahl Yakma Ünitesi'nde (Şimşek Labortechnik, Türkiye) derişik sülfürik asit ve katalizör bulunan ortamda yakıldıktan sonra, Kjeldahl Damıtma Düzenegi'nde (Şimşek Labortechnik, Türkiye) damıtma yapılmıştır. Toplanan destilat, %0.3'lük metilen kırmızısı-metilen mavisi indikatörü kullanılarak 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi ile titre edilip numunedeki azot değeri aşağıdaki formüle göre g/kg cinsinden hesaplanmıştır. Hesaplanan azot değeri, protein faktörü (6.25) ile çarpılarak ham protein değeri bulunmuştur (ANONİM, 1999).

$$\text{Azot (g/kg)} = (V - V_0) \times N \times F \times M / m$$

V: Titrasyonda harcanan 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi hacmi, ml

V₀: Tanık deney için titrasyonda harcanan 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi hacmi, ml

N: Titrasyonda kullanılan hidroklorik asit çözeltisinin normalitesi (0.1)

F: 0,1 N hidroklorik asit çözeltisinin faktörü

M: Azotun mol kütlesi (14.007)

m: Numune miktarı, g

3.2.1.1.6. Kül

Kül miktarı analizi için, sabit tartıma getirilmiş porselen kapsüller kullanılmıştır. Kapsül içine yaklaşık 5 g numune 0.0001 g hassasiyetle tartıldıktan sonra, ısıtıcı tabla üzerinde ön yakma işlemine tabi tutulmuş ve 550±25°C sıcaklıktaki kül fırınında (Protherm PLF 110/8, Türkiye) 4 saat süreyle yakma yapılmıştır. Numunelerdeki kül miktarı, aşağıdaki formül yardımıyla % olarak hesaplanmıştır (ANONİM, 1989b).

$$\% \text{ Kül} = (M_2 - M_0) \times 100 / M_1$$

M₀: Boş kapsülün ağırlığı, g

M₁: Numune ağırlığı, g

M₂: Yakma işleminin bitiminde kapsül ve toplam külün ağırlığı, g

3.2.1.1.7. Ham selüloz

Numunelerin ham selüloz tayinleri için, yaklaşık 3 g numune 0.0001 g hassasiyetle 250 ml'lik rodajlı bir erlene tartılmış ve üzerine 60 ml Scharrer reaktifi eklenmiştir. Erlen, ısıtıcı üzerine geri soğutma düzeneği altında yerleştirilip 30 dakika kaynaması sağlanmıştır. Kaynama süresinin sonunda, 95–100°C'deki çözelti, vakum erlenine yerleştirilmiş süzme krozesine kantitatif olarak aktarılmış ve su trompu kullanılarak süzölmüş, ardından süzüntü nötral oluncaya kadar sıcak damıtık su ile yıkanmıştır. Daha sonra süzme krozesine üç kez aseton doldurularak vakum tatbik edilmeden süzölmüştür. Bakiye dietil eter ile iki defa yıkanmış ve düşük basınç altında dietil eter uzaklaştırılmıştır. Süzme krozesi, içindeki bakiye ile birlikte 130±25°C'deki etüvde (Elektromag M6040 BP, Türkiye) yaklaşık 1 saat kurutulmuştur. Desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve hemen 0.5 mg hassasiyetle tartılmıştır. İki tartım arasındaki fark en fazla 1 mg oluncaya kadar, kurutma ve desikatörde soğutma işlemleri tekrarlanmıştır. Kurutulmuş bakiye 550±25°C'deki kül fırınında (Protherm PLF 110/8, Türkiye) 30 dakika yakılmıştır. Süzme krozesi oda sıcaklığına kadar desikatörde soğutulmuş ve 0.5 mg hassasiyetle tartılmıştır. Numunedeki ham selüloz miktarı kütlece yüzde olarak aşağıdaki formülden hesaplanmıştır (ANONİM, 1986b).

$$\% \text{ Ham Selüloz} = (M_1 - M_2) \times 100 / M_0$$

M_0 : Analiz numunesinin kütlesi, g

M_1 : Kurutmadan sonra süzme krozesi ve kalıntı, g

M_2 :Yakmadan sonra süzme krozesi ve kalıntı, g

3.2.1.1.8. Yağ

Randall tekniğine göre çalışan, daldırma, yıkama ve geri kazanma aşamalarından oluşan bir sistemde Velp Scientifica SER 148 Manual'e göre tayin edilmiştir (ANONİM, 2004). Ekstraksiyonda, çözücü olarak dietil eter kullanılmıştır. Sonuçlar kuru madde (KM) üzerinden aşağıdaki formül yardımıyla sonuç hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Yağ (KM)} = [(m_2 - m_1) \times 100] / [m_0 \times (100 - R)]$$

m_0 : Numune ağırlığı, g

m_1 : Ekstraksiyon krozesinin ağırlığı, g

m_2 : Ekstraksiyon krozesinin ve yağın ağırlığı, g

R: Numunedeki rutubet miktarı,

3.2.1.1.9. Etil alkol

Etil alkol tayini için, önce gilaburu numunesi damıtma düzeneğinde damıtılmıştır. Damıtık, yoğunluğu 1.49 g/ml olan sülfürik asitli ortamda 42.572 g/l konsantrasyonda hazırlanmış potasyum dikromat çözeltisi ile okside edilmiş ve ortamdaki fazla dikromat, demir (II)-1,10 fenantrolin indikatörü karşısında amonyum demir (II) sülfat çözeltisi ile titre edilmiştir. Sonuçta etil alkol miktarı, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (ANONİM, 2001a).

$$\text{Etil Alkol (g/l)} = V_1 \times (V_3 - V_2) \times 1000 / (V_3 \times V_0 \times V_4)$$

V_0 : Titrasyon için alınan deney numunesinin hacmi, ml

V_1 : Oksidasyon için kullanılan potasyum dikromat çözeltisinin hacmi, ml

V_2 : Titrasyonunda kullanılan amonyum demir (II) sülfat çözeltisinin hacmi, ml

V_3 : Tanık deneyde kullanılan amonyum demir (II) sülfat çözeltisinin hacmi, ml

V_4 : Deney numunesinin hacmi, ml

3.2.1.2. Biyoaktif Özellik Analizleri

Örneklerin askorbik asit içerikleri, toplam fenolik miktarları, antioksidan ve serbest radikal temizleme aktiviteleri aşağıdaki yöntemler kullanılarak belirlenmiştir:

3.2.1.2.1. Askorbik asit

Numunelerdeki askorbik asit miktarı, titrimetrik yöntemle tayin edilmiştir (ANONİM, 1989a). Numuneler, %2'lik okzalik asit çözeltisi ile ekstrakte edilmiştir. 10 ml numune üzerine 10 ml %2'lik okzalik asit çözeltisi eklenerek iyice karıştırılmıştır. Bu karışımdan 10 ml alınarak 100 ml'lik ölçülü balona aktarılmış, ekstraksiyon çözeltisi ile çizgisine tamamlanmış ve çalkalanmıştır. Elde edilen analiz çözeltisinden 10 ml alınarak önceden 1 g/l'lik standart askorbik asit çözeltisi ile ayarlanan %0.025'lik 2,6-diklorofenolindofenol boya çözeltisi ile titre edilmiştir. Sonuç, aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Askorbik Asit (mg/100 ml)} = (V_N - V_T) \times m_1 \times 100 / m_0$$

V_N: Analiz çözeltisinin titrasyonunda sarfedilen boya çözeltisi hacmi, ml

V_T: Tanık deneyde sarfedilen boya çözeltisi hacmi, ml

V₀: Deney numune çözeltisinden titrasyon için alınan kısımdaki deney numune hacmi, ml

m₁: Boya çözeltisinin 1 ml'sine eşdeğer askorbik asit kütlesi, mg

3.2.1.2.2. Toplam fenolik madde

Numunelerin toplam fenolik miktarlarını tespit etmek için, Folin-Ciocalteu metodu kullanılmıştır (SINGLETON ve ROSSI, 1965). Gilaburu suyu numunelerinin metanolla 1:9 oranındaki analiz çözeltileri hazırlanmıştır. Kapaklı deney tüplerine sırasıyla 2400 µl damıtık su, 40 µl numuneden hazırlanan analiz çözeltisi, 200 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ve 600 µl %20'lik sodyum karbonat çözeltisi eklenmiş ve vortekste (Elektromag M16, Türkiye) karıştırılmıştır. Son olarak 760 µl damıtık su ilave edilen tüpler oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda çözeltilerin absorbansı spektrofotometrede (Shimadzu UV-160, Japonya), 765 nm dalga boyunda metanole karşı okunmuştur. Sonuçlar, spektrofotometrede oluşturulan standart gallik asit eğrisinden elde edilen denklem yardımıyla hesaplanarak mg gallik asite eşdeğer (GAE)/100 ml numune olarak kaydedilmiştir.

3.2.1.2.3. Antioksidan aktivite

Gilaburu örneklerinin antioksidan aktivite tayini PRIETO ve ark. (1999)'nın uyguladığı prosedüre göre fosfomolibden metodu ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla belli konsantrasyonda hazırlanan gilaburu suyundan 0.4 mL alınarak üzerine 4 mL fosfomolibden çözeltisi (0.6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat) ilave edilmiştir. Örnekler 95°C sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosunda (Memmert WB-22, Almanya) 90 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Süre bitiminde örnekler hızla soğutulmuş ve 695 nm'deki absorbans değerleri belirlenmiştir. Hesaplama askorbik asitten 0-1 mg/mL sınırları düzeyinde bir seri standart çözelti hazırlanmış ve elde edilen kurve yardımıyla örneklerin antioksidan aktiviteleri mg askorbik asit eşdeğeri (AAE)/g kuru ekstrakt olarak verilmiştir.

3.2.1.2.4. Serbest radikal temizleme aktivitesi (Antiradikal aktivite)

Numunelerin serbest radikal temizleme aktivitesi, bazı modifikasyonlarla LEE ve ark. (1998) tarafından tanımlandığı gibi yapılmıştır. Analiz çözeltisi olarak %70 metanol ile 50 kat seyreltilen gilaburu suyu numuneleri kullanılmıştır. Kapaklı deney tüplerine analiz çözeltisinden 150 µL alınarak 1350 µL Tris-HCL ve 3000 µL 0,1 mM etanolde DPPH çözeltisi eklenmiştir. Kontrol olarak numune içermeyen metanol kullanılmıştır. Karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyon ardından numunelerin absorbansları 517 nm dalga boyunda %70'lik metanol çözeltisine karşı okunmuştur. Testler üç tekrarlı yapılmıştır. Gilaburu suyu numunelerinin %DPPH radikali giderme aktivitesi, $[(\text{Kontrol Absorbansı} - \text{Örnek Absorbansı}) \times 100 / \text{Kontrol Absorbansı}]$ formülüne göre hesaplanmıştır.

3.2.1.2.5. Toplam antosiyanin tayini

Örneklerin antosiyanin içeriği, pH diferansiyel metoduna göre yapılmıştır (FULEKI ve FRANCIS, 1968). Antosiyanin miktarları tüm örneklerde, siyanidin 3-glikozit cinsinden belirlenmiştir (MW=449.2, molar absorbans, $\epsilon=26.900$). Örneklerin antosiyanin miktarları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (WROSTALD, 1976):

$$\text{Antosiyanin mg/L} = (\Delta A / \epsilon \cdot L) 10^3 \times (\text{MW}) \times (\text{SF})$$

- ΔA : Absorbans farkı (uygulanan yönteme göre pH 1.0 ve pH 4.5 değerlerinde ölçülen absorbans farkı)
- ϵ : Molar absorbans
- L: Absorbans  l  m küvetinin tabaka kalınlığı, cm
- MW: Molekül ağırlığı
- SF: Seyreltme faktörü

3.2.1.3. Duyusal analizler

Proje süresince eğitilmiş panelistler ile duyusal analiz yapılmıştır. Laboratuvar şartlarındaki üretimde kullanılacak izolat ve/veya izolat kombinasyonu için fikir vermek ve duyusal beğeniye tespit etmek için duyusal analiz uygulanmıştır. Panelistlerin numuneleri renk/görünüm, tat, koku ve genel beğeni özellikleri yönünden 5 noktalı hedonik skala ile 8 adet eğitilmiş panelist tarafından değerlendirmesi istenmiştir. Panelistler özellikle geleneksel olarak tüketilen bu ürünün tadını ve diğer özelliklerini bilen kişilerden seçilmiştir. Hedonik skalada; 4-5 arası: Çok beğendim, 3-4 arası: Beğendim, 2-3 arası: Orta derecede beğendim, 1-2: arası: Beğenmedim, 1: Hiç beğenmedim olarak kabul edilmiştir.

3.2.1.4. Mikrobiyolojik analizler ve laktik asit bakterilerinin izolasyonu

Toplam 20 adet (10 adet toplanan + 10 adet laboratuvar da fermente edilen) geleneksel fermente gilaburu örneğinin toplam mezofilik aerobik bakteri, asidofilik sporlu bakteri, koliform bakteri ve *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, k f ve maya analizleri yapılmıştır. Ayrıca bütün fermente örneklere laktik asit bakterileri (LAB) belirlenmiş ve her örnek için atipik koloniler seçilerek saflaştırılmıştır. Saflaştırılan  rneklere -80°C 'de gelecek dönemlerde yapılacak PCR ile tanımlama ve probiyotik özelliklerin belirlenmesi için saklanmıştır. Mikrobiyolojik analizler için FDA/Bacteriological Analytical Manual'de tanımlanan standart metotlar kullanılmıştır. Gilaburu numunelerinden 25 g alınıp 225 mL Maximum Recovery Diluent (MRD) ile gıda mikrobiyolojisi laboratuvar şartlarına uygun olarak homojenize edilmiştir. Bu dilüsyondan diğer seri dilüsyonlara geçilmiştir. Hazırlanan bu dilüsyonlar, tüm mikrobiyolojik analizlerde kullanılmıştır. Tüm mikrobiyolojik sayımlar, 1 mL örnekte koloni oluşturan birim (kob) olarak belirlenmiş ve bu sayıların logaritmaları alınarak gösterilmiştir.

3.2.1.4.1. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı (TMAB)

Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı Plate Count Agar'da (PCA-Merck, Germany) 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılarak sayım yapılmıştır (ANONİM, 2001c).

3.2.1.4.2. Asidofilik sporlu bakteri (*Alicyclobacillus* spp.) sayımı

Örneklerin 80°C'de 10 dakika pastörize edilmesinden sonra, pH 3.9'a ayarlanmış BAT Agar'a (BAT-Merck, Germany) ekim yapılmasıyla tespit edilmiştir (WISSE ve PARISH, 1998).

3.2.1.4.3. Toplam koliform sayımı

Bakteriler Violet Red Bile Agar (VRBA-Merck, Germany) kullanılarak 37°C'de 24 saat inkübasyon sonunda sayım yapılmıştır (ANONİM, 2002b).

3.2.1.4.4. *Escherichia coli* sayımı

Eosin Metilen Blue Agar'da (EMB-Merck, Germany) 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (ANONİM, 2002b).

3.2.1.4.5. *Staphylococcus aureus* sayımı

Tellüritli yumurta sarısı (Egg yolk tellurite emulsion, Merck, Germany) eklenmiş Baird Parker Agar (BPA-Merck) kullanılarak 37°C'de 24–48 saatte inkübasyona bırakılarak parlak siyah renkli koloniler sayılmasıyla belirlenmiştir (ANONİM, 2001d).

3.2.1.4.6. Küf ve maya sayımı

Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC-Merck, Germany) besiyerinde ekim yapılarak 27°C'de 3-5 gün inkübasyon sonunda 20-200 arasındaki koloniler sayılmıştır (ANONİM, 2001e).

3.2.1.4.7. Laktik asit bakterisi (LAB) sayımı

LAB için ise, MRS ve M17 Agar besiyerlerinde yayma yöntemi kullanılarak ekim yapılmıştır. Petriler 30±1°C’de 48-72 saat anaerobik olarak inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda sayılabilir yoğunlukta olan petriler ayrılarak sayılmış ve her petriden birbirinden farklı görünümdeki üç atipik koloni seçilmiştir. Bu koloniler, aynı besiyerlerinin sıvı ortamı olan MRS broth ve M17 broth besiyerlerine alınıp üremeleri sağlanmış ve tekrar agarlı ortama pasajlanarak saflaştırılmıştır (DE MAN ve ark., 1960; SAGDIC ve ark., 2002) .

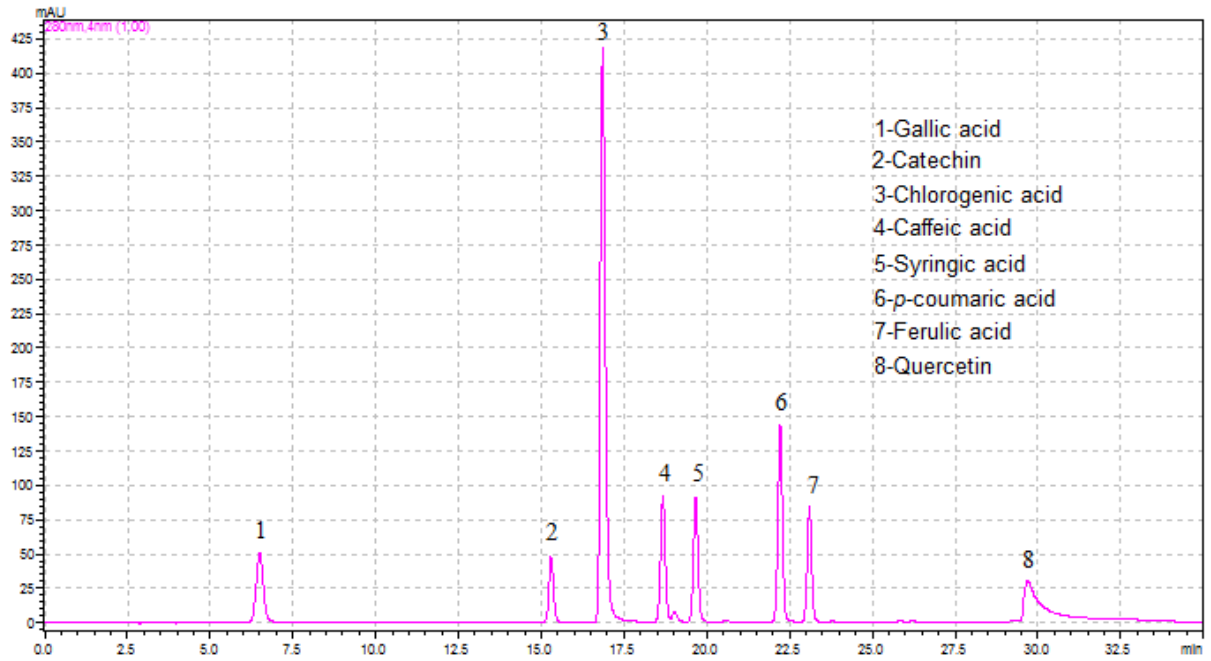
3.2.1.5. UFLC yöntemi ile fenolik asitlerin, flavonoidlerin ve antosiyaninlerin analizi

Fenolik bileşiklerin önemli bir bölümü meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında ve özellikle de burukluk ve acılık tadının hissedilmesinde etkilidir. Antosiyaninler ise meyve ve sebzelerin pembeden mora kadar olan renklerinin oluşmasını sağlamaktadır. Polifenoller olarak da adlandırılan fenolik bileşikler, yapılarında benzen halkası içerirler. Glikozillenme, açillenme, hidroksilasyon ve metoksilasyon reaksiyonları ile benzen halkasına birçok farklı grup bağlanmakta ve kimyasal yapıları farklı birçok fenolik bileşen oluşmaktadır. Gilaburu suyu da fenolik bileşenler açısından zengin bir meyvedir. Bu dönem içerisinde fermente gilaburu suyu örneklerinin fenolik asit, flavonoid ve antosiyaninleri kapsayan fenolik içeriğini belirlemek için öncelikle gilaburu meyvesi salamura içerisinden çıkartılarak musluk suyunda yıkanmış ve temiz bir süzgeç üzerinde sıkılmıştır. Elde edilen gilaburu suları ekstraksiyon ve çeşitli aşamalardan geçirildikten sonra, UFLC ’ye enjekte edilerek hangi fenolik bileşenler olduğu, standartlarla karşılaştırılarak miktarları hesaplanmıştır.

3.2.1.5.1. Fenolik asit ve flavonoidlerin analizi

Gilaburu sularının fenolik asit ve flavonoid içeriğini belirlemek için UFLC ’de kullanılacak olan standartlar olarak ÇAM (2005) ’in gilaburu suyunun fenolik içeriklerinin belirlenmesi üzerine yaptığı tezde belirlediği gilaburu suyunda yoğun olarak bulunan standartlar kullanılmıştır. Bu standartlar; gallik asit, kateşin, klorojenik asit, kafeik asit, şirincik asit, ferulik asit, p-kumarik asit ve quersetin olmak üzere toplam 8 adet standarttan oluşmaktadır. Bu standartlar ve konsantrasyonları; gallik asit: 50 µg/g, kateşin: 100 µg/g, klorojenik asit: 500 µg/g, kafeik asit: 50 µg/g, şirincik asit: 50 µg/g, p-kumarik asit: 50 µg/g, ferulik asit: 50 µg/g ve quersetin 150 µg/g olarak kullanılmıştır. Şekil 3.2 ’de bu araştırmada kullanılan fenolik standartlarının 280 nm’deki kromatogramı verilmiştir. Yapılan ön denemeler

sonucunda örnek hazırlama kartuşları kullanılarak fenolik asit ve flavonoidlerin ekstraksiyonu işlemi ile gilaburu sularının doğrudan UFLC 'ye enjekte edilmesi arasında bir fark olmadığı gözlenmiştir. Bundan sonraki analizler gilaburu sularının UFLC 'ye doğrudan enjeksiyonu şeklinde yürütülmüştür. Bunun için fermente gilaburu suları santrifüj tüplerine alınarak 4000 rpm' de 10 dk bir santrifüjleme işleminden sonra süpernatant kısmı 0. 45 µm'lik filtrelerden geçirilmiş ve UFLC cihazına enjekte edilmiştir. UFLC ile analiz koşulları daha önceden koşulları belirlenmiş ve Uluslar arası Uyum Komisyonu (International Conference on Harmonization) tarafından belirtilen kriterlere göre validasyonu sağlanmış olan bir metot baz alınarak yürütülmüştür (ÇAM, 2009).



Şekil 3. 2. Fenolik asit ve flavonoid standartlarına ait 280 nm'deki kromatogramı

Kullanılan Kolon

Zorbax ODS kolon (C18) (250*4.6, 5µm)

Kullanılan solventler

Solvent A: Metanol (HPLC dereceli)

Solvent B: %2 'lik asetik asit çözeltisi (pH: 2.00)

Akış hızı: 1 mL/dak

Enjeksiyon Hacmi: 10-20 µL

Dalga boyu: 200-800 nm

Tablo 3. 1. Fenolik asit ve flavonoidler için UFLC 'de uygulanan dereceli elüsyon programı

Solvent A (%2 asetik asitli su)	Solvent B (Metanol)	Zaman
%95	%5	0. dakika
%95	%5	10. dakika
%30	%70	30. dakika
%95	%5	40. dakika

Tanımlama ve Hesaplama

Gilaburu suyunda fenolik asit ve flavonoidlerin tanımlanması için;

- İlgili standart bileşikle karşılaştırma
- Standart katma
- UV-Vis spektrum karşılaştırma yöntemleri kullanılmıştır.

Buna göre gilaburu sularında kateşin, klorojenik asit ve quersetin doğrudan belirlenmiştir. Bileşiklerin kolondan çıkış zamanları, UV-Vis spektrum karşılaştırması ve literatür bilgileri birleştirilerek teşhis edilen kateşin türevleri kateşin standardı kullanılarak, kafeoilquinik asit bileşiği kafeik asit standardı kullanılarak ve quersetin türevleri de quersetin standardı kullanılarak teşhis edilmiştir. Kantitatif analizler ilgili standartların kalibrasyon grafikleri kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla örneklerin fenolik asit ve flavonoid içerikleri 280, 320 ve 360 nm dalga boyu olmak üzere en fazla spektrum gösterdikleri 3 dalga boyundan bir baz alınarak tespit edilmiştir.

3.2.1.5.2. Antosiyaninlerin Analizi

Antosiyanin analizi, daha önceden validasyonu sağlanmış bir metot kullanılarak yürütülmüştür (WROLSTAD, 2000). Antosiyaninlerin ekstraksiyonu ve matriks etkisinin azaltılması için katı faz ekstraksiyon kartuşu kullanımının antosiyaninleri konsantre etmek açısından da daha uygun olduğu belirlenmiştir. Bundan sonraki çalışmalar katı faz ekstraksiyon kartuşları kullanılarak aşağıdaki gibi yürütülmüştür.

Antosiyaninlerin Ekstraksiyonu (Katı faz Ekstraksiyonu)

- C18 Sep Pak kartuşun şartlandırılması için
- Etil asetat (5 mL)
- HCl (%0.01-pH:2.00 olacak) ile Asitlendirilmiş MeOH (5 mL)

- HCl (%0.01-pH:2.00 olacak) ile Asitlendirilmiş Su (5 mL) çözeltileri kartuştan geçirilmiştir.
- Takiben 5 mL gilaburu suyu örneği kartuştan geçirilmiş.
- Daha sonra kartuş asitlendirilmiş su (5 mL) ile yıkanmıştır.
- Kartuş yaklaşık 3-5 dakika süresince azot gazı akımında tutularak kalıntı tamamen kurutulmuştur.
- Kurutulmuş kartuştan fenolikleri almak için 10 mL etil asetat geçirilmiştir.
- Antosiyaninleri almak için ise 5 mL asitlendirilmiş MeOH geçirilmiştir.
- Asitlendirilmiş su çözeltisi vakum evaporatörde evapore edilerek çözücü uzaklaştırılmıştır.
- Daha sonra çözücüsü uzaklaştırılmış örnek asitlendirilmiş MeOH (0.6 mL) ve ultra saf su (1.4 mL) eklenerek tekrar çözündürülmüştür. Daha sonra çözelti 0.45 µm'lik filtrelerden geçirilerek UFLC 'ye enjekte edilmiştir (SKREDE ve ark., 2000).

Asit hidrolizi

Gilaburu örneğinden 2 mL alınarak 2N HCl ile bir vial konulup üzerine azot ilave edilerek 30 dk kaynar su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra vial su banyosundan alınarak hemen soğutulmuş ve yukarıda anlatılan katı-faz ekstraksiyonu yapılmıştır. En son aşamada çözücüsü uzaklaştırılmış örnek en son %4'lük fosforik asit ile çözündürülmüş ve filtre edilerek UFLC 'ye enjekte edilmiştir.

Kullanılan solventler

Solvent A: Asetonitril

Solvent B: %10 asetik asit%1 fosforik asit %5 asetonitril

Akış hızı: 1 mL/dak.

Enjeksiyon Hacmi: 20-40 µL

Dalga boyu: 200-800 nm

Tablo 3. 2. Antosiyaninler için UFLC 'de uygulanan dereceli elüsyon programı

Solvent A	Solvent B	Zaman
0	100	0. dakika
0	100	5. dakika
20	80	20. dakika
40	60	25. dakika
0	100	30. dakika

Tanımlama ve Hesaplama

Gilaburu suyu kromatogramlarındaki antosiyanin pikleri, standart maddelerin geliş süresi ve PDA (Photodiode Array) dedektöründe elde edilen UV spektrumlarının karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. Gilaburu suyunda belirlenen siyanidin glikozit bileşiği için asidik hidroliz işlemi uygulanmış ve bunun aglikon formunun da siyanidin olduğunun belirlenmesi ile doğrulama yapılmıştır (WROLSTAD, 2000).

Gilaburu örneklerindeki antosiyaninlerin miktarlarının belirlenmesi 3 aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada örnekler katı faz ekstraksiyonuna göre antosiyanin ekstraksiyonu yapıldıktan sonra UFLC 'ye enjekte edilmiş ve kromatogramlar elde edilmiştir. İkinci aşamada ise 4 adet antosiyanidin (siyanidin, malvidin, pelargonidin ve delfinidin) standartları hazırlanarak enjekte edilmiş ve kurveleri çizilmiştir. Son aşamada ise en fazla antosiyanidin olma ihtimali olan gilaburu örneğinde antosiyaninlerin asit hidroliz işlemi gerçekleştirilmiştir. Hidroliz işleminden sonra UFLC 'ye enjekte edilerek kromatogram elde edilmiş ve bu kromatogram ile standart kromatogramlarının ve spektrumlarının karşılaştırılması sonucunda gilaburu örneklerinde major antosiyanidin bileşeninin siyanidin olduğu belirlenmiştir. Gilaburu örneklerindeki siyanidin glikozit olarak tanımlanan bileşiğin miktarı siyanidin eşdeğeri olarak standart bileşik ile oluşturulan kalibrasyon grafiği ile belirlenmiştir.

3.2.1.6. GC-MS yöntemi ile toplam uçucu aroma maddeleri analizi

Gilaburu suyu örneklerin toplam uçucu aroma maddeleri head space GC-MS yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmada DBWAX kolon kullanılarak taze ve fermente gilaburu sularında oluşan farklı uçucu aroma maddeleri saptanmıştır. Aroma madde tayini

MACHIELS ve ISTASSE (2003)'ye göre yapılmıştır. 5 mL gilaburu suyu örneği viallere doldurulmuştur. Vialler öncelikle 50°C'de 20 dakika süreyle bekletilmiştir. Sonrasında vial fiber daldırılarak 20 dakika daha 50°C'de bekletilmiştir. Fiber cihaza enjekte edilmiştir. Desorpsiyon sırasında fırın sıcaklığı 35°C olup, bu sıcaklıkta 3 dakika tutulmuştur. Metotta belirtildiği şekilde 10°C/dk oranında bir artış ile sıcaklık 50°C' ye yükseltilmiş, sonrasında 4°C/dk' lık bir artışla 200°C' ye ayarlanmıştır. Son olarak da 50°C/dk' lık bir artışla sıcaklık 250°C' ye yükseltilerek, bu sıcaklıkta 10 dk süreyle tutulmuştur. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmış ve helyum akış hızı 1.5 mL/dk olarak ayarlanmıştır. Daha sonra kromatogramda görülen pikler Flavor 2, HPCH 1607 ve Wiley7nNIST isimli kütüphaneler taranarak % olarak tanımlanmıştır.

3.2.2. Gilaburu sularından LAB izolasyonu ve tanımlanması

3.2.2.1. Laktik Asit Bakterileri (LAB)'nin izolasyonu ve saflaştırılması

LAB izolasyonu için ise, MRS besiyerlerinde yayma ekim yöntemi kullanılacak ve ekim yapılan petriler 30±0.1°C 'de 72 saat anaerobik olarak inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda petrilere birbirinden farklı görünümdeki koloniler seçilmiş ve birkaç kez saflaştırılmıştır. Bakteri isolatları DNA'nın ekstraksiyonu, amplifikasyonu, jelde yürütülmesi, saflaştırılması ve dizi analizi olmak üzere 5 aşamadan geçerek genotipik olarak tanımlanmıştır.

3.2.2.2. LAB 'nden DNA izolasyonu

LAB 'nden DNA izolasyonu için ticari DNA izolasyon kiti (İnvitrogen) kullanılmıştır. Öncelikle eppendorf tüplerine (2ml'lik) 180 µl lizozimli izolasyon solüsyonu (20 mM Tris-HCl, 10 mM EDTA pH 8, 0.3 mM lizozim) ilave edilmiştir. Saf kolonilerden öze ile 2-3 loop alınarak tüplerde bulunan lizozim solüsyonu ile süspanse edilmiştir. Elde edilen süspansiyon 37°C 'de 45 dk inkübe edilmiş ve 20 µl Proteinaz K eklenmiş ve 56°C 'de 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 200 µl Genomic Lysis/Binding Buffer (İnvitrogen) eklenmiş ve 70°C de 15 dk inkübe edilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığına soğutulmuş ve spin kolonlara alınmıştır. Spin kolon 200 µl etanol eklenip kısa bir karıştırıldıktan sonra spin kolonlar 6000 x g 'de 1 dk santrifüj edilerek DNA 'nın silika membranda tutulması sağlanmıştır. Daha sonra spin kolonlar önce 500 µl Genomic Wash Buffer 1 (İnvitrogen) daha sonra ise yine 500 µl Genomic Wash Buffer 2 ile yıkanmıştır. 20000 x g 'de 3 dk santrifüj edilen tüpler oda sıcaklığında yaklaşık 30 dk kurumaya bırakılmıştır. Kurutma işleminin sonunda spin

kolonlara 50 µl Genomic elution buffer (Invitrogen) eklenip 10000 x g 'de 1 dk santrifüj işlemi uygulanmıştır. Elüe edilen DNA'ların konsantrasyonları nanodrop (nanospektrofotometre) (ACTGene) ile ölçülerek belirlenmiştir (KESMEN ve ark., 2012).

3.2.2.3. LAB 'nin rep PCR (GTG5) analizi

Proje kapsamında tüm örneklerden toplam 332 farklı izolat elde edilmiştir. Daha önce elde edildiği belirtilen 400 civarı izolatin aynı örnekten alınan bazılarının, mikroskopik görüntüleri ve benzer özellikleri dolayısıyla, aynı örnekteki-aynı bakteri olduğu için, iş yükünü azaltmak için aynı izolatlar çalışma kapsamından çıkarılmıştır. Tüm izolatların tanımlanmasında 16 S rRNA geninin tüm baz dizisinin dizi analizi ile ortaya çıkarılmasına ilave olarak dizi analizi maliyetini düşürmek için aynı türe ait izolatların rep PCR (GTG5) yöntemi ile fingerprint analizi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca doğrulama yapmak için ikinci bir PCR yöntemi olarak ta BOX PCR yöntemi uygulanmıştır (KESMEN ve ark., 2012).

DNA amplifikasyonu

Bu amaç için 15 µl Taq PCR mix (Fermentas), 12. 5 µl PCR grade su 100 ng her bir saf kültürden izole edilen template DNA ve 0.5 µM GTG5 (5'-GTG GTG GTG GTG GTG-3') primerden oluşan reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan karışımı Termal Cycler'da 95°C 'de 10 dk ilk denatürasyon ve 94°C 'de 1 dk denaturasyondan sonra 40°C 'de 1 dk annealing ve her döngüde 65°C 'de 8 dk ekstensiyon uygulanmıştır. Toplam 35 döngü uygulanmış olup en son ekstensiyon aşaması 65°C 'de 16 dk olarak gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri daha sonra %1.5 'lik agaroz jelde 20 X 25 cm'lik bir yatay elektroforez tankında 50 V 'luk sabit voltajda 4°C'de 20 saat yürütüldükten sonra görüntülenmiştir (KESMEN ve ark., 2012).

3.2.2.4. DNA saflaştırılması, 16 S rRNA geninin baz dizisinin eldesi ve gen bankasındaki dizilerle karşılaştırılması

Rep PCR ve BOX PCR analizi ile izolatların akrabalık ilişkileri ortaya çıkarılmış ve farklı türden oldukları belirlenen izolatların her birinden en az iki adet seçilmiş ve yaklaşık 1500 bazlık 16 S rRNA geninin tüm dizisi ortaya çıkarılarak tanımlanmıştır. Bu amaçla 15 µl Taq PCR mix (Fermentas), 12. 5 µl PCR grade 100 ng her bir saf kültürden izole edilen template DNA ve 0.5 µM ileri primer LPW57 (5'-AGTTTGATCCTGGCTCAG-3') ve 0.5 µM geri

primerden LPW205 (5'-CTTGTTACGACTT CACCC-3') oluşan reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Termal döngü şartları; 95°C 'de 10 dk ilk denatürasyon ve 94°C 'de 1 dk denatürasyondan sonra 58°C 'de 1 dk annealing ve her döngüde 72°C 'de 2 dk ekstensiyon uygulanmıştır. PCR ürünlerinin oluşup oluşmadığı 1'lik %(w/v) jelde ve 1 ×TBE buffer içerisinde agaroz elektroforezinde yürütülerek kontrol edilmiştir. Oluşan PCR ürünleri ticari purifikasyon kiti (Invitrogen) ile saflaştırılarak dizi analizi için İontek (İstanbul)'e gönderilmiştir. İontek'ten gelen dizi analiz sonuçları Gen Bankası'nın verileri ile karşılaştırılarak her bir izolat tanımlanmıştır. Bununla birlikte daha önce sucuktan izole edilerek tanımlanmış olan *Lb. plantarum*, *Lb. casei* ve *Lb. brevis* türleri de, tanımlamayı doğrulamak için kontrol olarak kullanılmıştır (KESMEN ve ark., 2012).

3.2.3. Gilaburu suyundan izole edilen ve tanımlanan LAB 'ne uygulanan testler

3.2.3.1. Gram boyama

MRS agar üzerindeki 24 saatlik kolonilere gram boyama yapılarak ve ışık mikroskopunda incelenmiştir (SAGDIC ve ark., 2002).

3.2.3.2. Katalaz testi

Katalaz testi için; mikroorganizma örnekleri MRS broth'da 30°C±0.1 'de 24 saat süreyle geliştirilmiş ve kültür üzerine %3'lük Hidrojen peroksit çözeltisinden 2-3 damla ilave edilerek gaz oluşup oluşmamasına bakılarak katalaz özelliği tespit edilmiştir (SAGDIC ve ark., 2002).

3.2.3.3. Glukozdan gaz oluşturma

İzolatlar durham tüpü bulunan MRS sıvı besiyerinde 30°C'de 48 saat geliştirilmiş ve bakterilerin gaz oluşturma durumlarına göre ayrımları yapılmıştır (SAGDIC ve ark., 2002).

3.2.3.4. 15°C ve 45°C 'de gelişme

İçerisinde 5 ml'lik MRS besiyeri içeren tüplere taze kültürden öze ile aşılama yapılmış, 15°C ve 45°C 'de, 48 saatlik inkübasyon sonunda bulanıklık oluşup oluşmamasına göre değerlendirme yapılmıştır (SAGDIC ve ark., 2002).

3.2.3.5. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme

İçerisinde %2 ve %4 sodyum klorür içeren MRS broth besiyerine izolatlar inoküle edilmiş $30\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda besiyerinde bulanıklık olup olmaması gözlenerek değerlendirilmiştir (SAGDIC ve ark., 2002).

3.2.3.6. İzolatların asit üretme yeteneklerinin belirlenmesi

İzolatların asit üretme yeteneklerini test etmek için MRS sıvı besiyeri bulunan tüplere izolatlardan ayrı ayrı inoküle edilerek ve $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0., 6., 12. ve 24. saatler sonunda kültürlerde pH ölçümleri yapılarak asit üretme özellikleri belirlenmiştir (ARICI ve ark., 2004).

3.2.3.7. İzolatların hidrojen sülfür üretme yeteneklerinin belirlenmesi

İzolatların hidrojen sülfür üretme yeteneklerini belirlemek için, Triple Sugar Iron Agar yatık besiyerine öze ile aktif kültürden ekim yapıldıktan sonra $30\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 'de 2 hafta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyerinin renginde siyahlaşma olup olmadığı gözlenerek hidrojen sülfür üretme özelliği belirlenmiştir (ARICI ve ark., 2004).

3.2.3.8. İzolatların farklı pH 'larda gelişiminin belirlenmesi

MRS sıvı besiyerinin pH'sı 1 N HCl ile 2.5 ve 3.5'e ayarlandıktan sonra steril edilmiştir. Daha sonra 18 saat geliştirilen taze saf kültürlerden MRS sıvı besiyerine aşılanmış ve 30°C 'de inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda besiyerlerinde bulanıklık olup olmamasına bakılarak bakterilerin farklı asitlerde gelişmesi tespit edilmiştir (ARICI ve ark., 2004).

3.2.3.9. İzolatların safra tuzu toleranslarının belirlenmesi

İzolatların safra tuzu toleranslarını test etmek için, MRS broth besiyerine farklı konsantrasyonlarda (0.0, 0.15, 0.3, 0.6 veya 1.0 g/100 mL) safra tuzu ilave edilerek steril edilmiş. Steril besiyerlerine izolatlardan aşılama yapılarak 30°C 'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bulanıklık olup olmamasına bakılarak safra tuzu toleransı belirlenmiştir (ARICI ve ark., 2004).

3.2.3.10. İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi

İzolatların antibiyotik duyarlılıklarını test etmek için 8 adet antibiyotik (Amp-10; ampicillin, C-30; chloramphenicol, VA-30; vancomycin, K-30; kanamycin, P-10; penicillin, S-10; streptomycin, E-15; erythromycin, TE-30; tetracycline hydrochloride) diski kullanılmıştır. İzolatların MRS sıvı besiyerindeki 18 saatlik aktif kültürleri 45-50°C 'ye soğutulan steril MRS agar besiyerine %1 oranında ilave edildikten sonra steril petrilere dökülmüştür. Bu şekilde hazırlanan petrilere, petri kabının kenarından 10 mm, birbirlerinden 15 mm uzaklıkta olacak şekilde antibiyotik diskler yerleştirilmiştir. Daha sonra petriler, 30°C 'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonu çapları ölçülmüştür (ARICI ve ark., 2004).

3.2.3.11. Arjininden amonyak (NH₃) oluşturma

Arjininden amonyak oluşturma yeteneğinin saptanmasında Arjinin MRS Broth besiyeri kullanılmıştır. 5'er ml'lik besiyerine aktif kültürlerden birer öze aşılanarak 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve bu sürenin sonunda Nessler reaktifi katılarak renk değişimi incelenmiştir. Turuncu renk, arjininden amonyak oluşumunun göstergesi olarak kabul edilmiştir (SAGDIC ve ark., 2002).

3.2.3.12. İzolatların Tannaz Aktivitelerinin Test Edilmesi

Gilaburu suyu gibi acı-buruk tadlı meyve sularında acılığın girebilmesi önemli aşamalardan biridir. Bu amaçla elde edilen izolatların acılığı oluşturan tanenleri azaltmada tannaz aktivitesi, KWON ve ark. (2008) belirttiği metotla MRS besiyerine %1 tannik asit eklenerek gerçekleştirilmiştir. İzolatların besiyeri üzerinde geliştikten sonra zon oluşturup oluşturmadığına bakılarak tannaz aktivitesinin olup olmadığına karar verilmiştir.

3.2.3.13. İzolatların Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi

24 saatlik aktif LAB kültürlerinden %2 oranında yağsız süt besiyerine inoküle edilerek 30±1°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda 30 ml'ye damıtık su ile tamamlanarak ve 7000 dev/dak hızla 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası, üstte kalan kısım alınarak Whatman 42 filtre kağıdından karanlık ortamda süzölmüştür. Süzölen

kısımdan 4'er ml alınarak üzerlerine sırasıyla 0.5 ml sülfürik asit, 0.5 ml amonyum molibden ve 0.5 ml potasyum iyodür çözeltileri ilave edilerek karıştırılmış ve 350 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçümleri yapılmıştır. Sonuçlar, hidrojen peroksit standart eğrisi ile karşılaştırılarak, izolatların hidrojen peroksit üretimleri $\mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır (TOKSOY, 1996).

3.2.3.14. İzolatların Bakteriyosin Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi

MRS sıvı besiyerindeki bir gecelik aktif kültürlerin 0.2 M sodyum fosfat tamponu ile pH'sı 7.2'ye ayarlanmış, katalaz ilavesi ile H_2O_2 nötrlenmiş ve böylece MRS agar petrilere 5 μl damlatıldıktan sonra, 37°C'de 12 saat inkübe edilerek ve tamponlu yumuşak agar ile yüzey kaplanmıştır. 12 saatlik ek inkübasyondan sonra, petriler, damlanın etrafında gelişmeyi inhibe eden zonlar açısından test edilmiştir (Kontrol grubu indikatör suş olarak nisin üretme yeteneği olan *Lactococcus lactis* ilave edilerek bakteriyosin üretimi doğrulanmıştır). İnhibitör maddenin protein yapısını test etmek için her bir bakteriyal gelişme noktasının etrafına 10 μl tripsin çözeltisi (10 mg/ml) eklenmiş ve petriler, 37°C'de 3 saat inkübe edilmiştir. Tripsin damlatılmış zonda gelişmeyi inhibe eden zonun olmayışı, inhibitörlerin proteaz duyarlılığını göstermektedir. Bakteriyosin taraması için, potansiyel patojen ve bozucu bakteriler (*Bacillus cereus* ATCC 33019, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 33150, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729) kullanılmıştır (TOKSOY, 1996).

3.2.3.15. İzolatların D (-), L (+) ve DL Laktat Üretme Yeteneklerinin Test Edilmesi

İzolatların D (-), L (+) ve DL laktat üretme yetenekleri, enzimatik olarak D-laktat and L-laktat dehidrogenaz kitleri (Roche Diagnostic, Germany) kullanılarak saptanmıştır (BOEHRINGER-MANNHEIM, 1989).

3.2.3.16. İzolatların Tutunma Özelliklerinin Test Edilmesi

Probiyotiklerin bağırsak yüzeylerine tutunma kabiliyetlerinin ölçüsü olan hidrofobisite testi VINDEROLA ve REINHEIMER (2003)'e göre tespit edilmiştir. Taze kültürler 12000 dev/dk da 5°C'de 5 dk santrifüj edildikten sonra iki kez 50 mM K_2HPO_4 (pH 6,5) buffer tamponu ile

yıkanmıştır. Daha sonra 3 ml bakteri solüsyonu ve 0,6 ml n-hekzadekan ile vortex'te 120 sn süre ile karıştırılmış ve iki fazın ayrılması için 37°C'de bekletilmiştir. Sulu faz dikkatlice alınarak 560 nm'de absorbans ölçülmüştür. İzolatların hücre yüzeyi hidrofobisitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Hidrofobisite} = (A_0 - A / A_0) \times 100$$

A₀: n-hekzadekan ile ekstraksiyondan önceki absorbans

A: n-hekzadekan ile ekstraksiyondan sonraki absorbans

3.2.3.17. İzolatların Antibakteriyel Aktivitelerinin Test Edilmesi

İzolatların MRS sıvı besiyerleri içindeki 24 saatlik taze kültürleri hazırlanmıştır. Daha sonra kültür santrifüjlenerek hücresiz solüsyon elde edilerek ve bu süpernatant petrilere ilave edilmiştir. Antibakteriyel aktivite için seçilen *B. cereus* ATCC 33019, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* O157:H7 ATCC 33150, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. typhimurium* ATCC 14028, *S. aureus* ATCC 25923 ve *Y. enterocolitica* ATCC 27729 test bakterilerinin 18 saatlik kültürlerini %1 oranında içeren Nutrient Agar besiyerleri petrilere dökülmüş katılaştıktan sonra 6 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Her bir kuyucuğa antibakteriyel aktivitesi test edilecek izolatın süpernatantı konulmuştur. 24 saat inkübasyon sonunda, kuyucuklar etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür (TOKSOY, 1996; ARICI ve ark., 2004).

3.2.3.18. İzolatların Dondurmaya ve Liyofilizasyona Dayanıklılıklarının Test Edilmesi

İzolatlar, MRS broth içinde 30°C'de 24 saat geliştirilmiştir. İzolatlar, 20 dak. süreyle 10.000 devirde santrifüjlenmiştir. Daha sonra hücre peletleri, %50 gliserol içeren fosfat tampon tuzu ile yıkadıktan sonra %10 (w/v) yağsız süt solüsyonu içinde süspanse edilmiştir. Daha sonra hücre süspanسیونları, -80°C dondurulmuş ve liyofilizatörde liyofilize edilmiştir. Liyofilizasyondan önce ve sonra canlı hücre sayısı; seri dilisyonlar hazırlanarak sayılmış ve sonuçlar koloni oluşturan birim (kob/mL) olarak ifade edilmiştir. Dondurma işleminden önce, yağsız süt solüsyonundan seri dilüsyonlar hazırlanıp MRS agar petrilere ekim yapılmıştır. Dondurularak kurutulan örnekler -20, +4 ve +25°C'lerde 75 gün depolanmış ve bu süre sonunda farklı depolama sıcaklıklarındaki her bir örnek dilisyon çözeltisi ile yeniden süspanse

edilerek, seyreltilmiş ve ardından ekim yapılmıştır. Petriler, 30°C’de 48 saat inkübe edilmiş, sayımları yapılmıştır (KOS ve ark., 2008).

3.2.4. Probiyotik Gilaburu Suyu Üretimi ve Yapılan Analizler

3.2.4.1. Probiyotik gilaburu suyu üretimi

Probiyotik gilaburu suyu üretmek için seçilen 3 farklı LAB kültürü (*Lb. plantarum* 19e, *Lb. brevis* 15a ve *Lb. casei* 20a) ile proje kapsamında olmadığı halde probiyotik özelliği olan 2 farklı referans probiyotik kültür (*Lb. rhamnosus* ve *Lb. casei*) kullanılmıştır (Tablo 3.3). Ancak referans probiyotik kültürlerin gilaburuda gelişmemesi neticesinde, bu örnekler denemelerden çıkarılarak izolatlarla denemeler gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmada kullanılacak gilaburu suyu pastörize edilmiş bir şekilde Kayseri’ de faaliyet gösteren bir meyve suyu fabrikasından (Kayseri Pazarı, Kayseri) temin edilmiştir. LAB gilaburu suyuna katmak için öncelikle aktive edilmiştir. Bu amaç için LAB kültürleri MRS broth’a aşılansmış ve 30°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra bu kültürler tekrar MRS broth’ aşılanarak 30°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. LAB kültürleri santrifüj edilmiş 12000 dev/dk da 5°C’de 5 dk santrifüj edildikten sonra iki kez 50 mM K₂HPO₄ (pH 6,5) buffer tamponu ile yıkanmıştır. Daha sonra kültürler steril %0.85’lik tuzlu su ile homojenize edilerek pastörize gilaburu suyuna ilave edilmiştir. Bu arada gilaburu sularına steril %2 glukoz ilave edilmiştir. hazırlanan gilaburu suları +4°C’de 60 gün depolanmış ve depolamanın 0., 15., 30. ve 60. günlerinde fizikokimyasal, mikrobiyolojik, duyuusal ve biyoaktif özellikleri incelenmiştir.

Tablo 3. 3. Probiyotik gilaburu üretiminde kullanılan LAB kombinasyonları

Örnek No	LAB kombinasyonu
PG1	Kontrol ¹
PG2	<i>Lb. brevis</i>
PG3	<i>Lb. casei</i>
PG4	<i>Lb. plantarum</i>
PG5	<i>Lb. brevis</i> + <i>Lb. casei</i>
PG6	<i>Lb. brevis</i> + <i>Lb. plantarum</i>
PG7	<i>Lb. casei</i> + <i>Lb. plantarum</i>
PG8	<i>Lb. brevis</i> + <i>Lb. casei</i> + <i>Lb. plantarum</i>

¹: dışarıdan LAB ilave edilmemiş gilaburu suyu

3.2.4.2. Fizikokimyasal analizler

3.2.4.2.1. Suda çözünür katı madde (Briks)

3.2.1.1.1' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.2.2. pH

3.2.1.1.2' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.2.3. Asitlik (%)

3.2.1.1.3' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.2.4. İndirgen şeker

3.2.1.1.4' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.2.5. Protein

3.2.1.1.5' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.2.6. Kül

3.2.1.1.6' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.2.7. Ham selüloz

3.2.1.1.7' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.2.8. Yağ

3.2.1.1.8' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.2.9. Etil alkol

3.2.1.1.9' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.3. Biyoaktif Özellik Analizleri

3.2.4.3.1. Askorbik asit

3.2.1.2.1' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.3.2. Toplam fenolik madde

3.2.1.2.2' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.3.3. Antioksidan aktivite

3.2.1.2.3' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.3.3.4. Serbest radikal temizleme aktivitesi (Antiradikal aktivite)

3.2.1.2.4' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.4. Duyusal analizler

3.2.1.3' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.5. Mikrobiyolojik analizler ve laktik asit bakterilerinin izolasyonu

3.2.4.5.1. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı (TMAB)

3.2.1.4.1' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.5.2. Asidofilik sporlu bakteri (*Alicyclobacillus* spp.) sayımı

3.2.1.4.2' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.5.3. Laktik asit bakteri (LAB) sayımı

3.2.1.4.7' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.6. Uçucu aroma analizi

3.2.1.6' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.7. Fenolik asit ve flavonoidlerin analizi

3.2.1.5.1' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.8. Antosiyanin analizi

3.2.1.5.6' de belirtildiği gibi yapılmıştır.

3.2.4.9. İstatiksel analizler

Gilaburu suyu örneklerde; fizikokimyasal, biyoaktif, mikrobiyolojik ve duysal özelliklerin örneklerle ve depolama süresine göre değişimi, istatistiksel olarak saptanmıştır. Bu amaçla ANOVA testinden yararlanılmış ve ortalamalar arasındaki önemli bulunan farklılık çoklu karşılaştırma testi olan Duncan yöntemiyle belirlenmiştir (SAS, 2000).

4. BULGULAR

4.1. Piyasadan Toplanan Ve Kontrollü Şartlar Altında Fermente Edilen Gilaburu Suyu Örnekleri Sonuçları

4.1.1. Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

Kayserinin farklı bölgelerinden toplanan taze gilaburu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri Tablo 4.1’de verilmiştir. Tablo’da görüldüğü üzere taze örneklerin briks değerlerinin 8.30-9.90 arasında, indirgen şeker miktarları 62.82- 70.93 g/kg arasında, pH değerleri 3, toplam asitlik değerleri (laktik asit cinsinden) %2, protein miktarları 1 g/kg, kül değerleri %0.5, yağ miktarları kuru madde de %0.3 civarlarında ve ham selüloz miktarı ise %1’den düşük tespit edilmiştir. Etil alkol taze gilaburu örneklerinde beklenildiği gibi hiç tespit edilememiştir.

Tablo 4. 1. Kayserinin farklı bölgelerinden toplanan taze gilaburu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri

Örnek	°Briks	pH	Asitlik	İndirgen şeker	Protein	Kül	Ham selüloz	Yağ	Etil alkol
T1	9.60±0.00	3.20±0.01	2.04±0.00	64.81±0.28	1.39±0.00	0.46±0.01	0.54±0.01	0.36±0.01	-
T2	9.50±0.00	3.26±0.00	2.00±0.00	69.27±0.47	1.47±0.01	0.50±0.01	0.59±0.00	0.35±0.01	-
T3	8.50±0.00	3.36±0.00	1.79±0.00	70.93±0.14	1.50±0.01	0.68±0.00	0.72±0.00	0.32±0.02	-
T4	8.60±0.00	3.44±0.00	1.75±0.00	67.72±0.21	1.29±0.01	0.55±0.00	0.64±0.00	0.32±0.02	-
T5	9.40±0.00	3.38±0.00	2.11±0.00	66.47±0.33	1.20±0.01	0.62±0.00	0.68±0.00	0.34±0.02	-
T6	9.10±0.00	3.33±0.01	2.17±0.00	65.44±0.13	1.16±0.00	0.66±0.01	0.74±0.01	0.31±0.01	-
T7	8.80±0.00	3.41±0.01	2.23±0.00	68.37±0.17	1.16±0.02	0.51±0.01	0.57±0.01	0.32±0.02	-
T8	9.00±0.00	3.25±0.00	1.95±0.00	62.82±0.17	1.23±0.02	0.53±0.01	0.57±0.01	0.34±0.02	-
T9	8.30±0.00	3.22±0.01	1.87±0.00	63.00±0.23	1.19±0.01	0.48±0.00	0.56±0.01	0.30±0.01	-
T10	9.90±0.00	3.10±0.01	2.01±0.00	68.69±0.22	1.16±0.01	0.54±0.01	0.61±0.00	0.31±0.01	-

T: Taze gilaburu örnekleri, Asitlik: %, İndirgen Şeker: g/kg, Kül: %, Protein: g/kg, Ham selüloz: %, Yağ: %, Etil alkol: g/L

Kayseri’nin farklı bölgelerinden taze olarak toplanan ve laboratuvar şartlarında 4 ay fermente edilen gilaburu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri Tablo 4.2’ de gösterilmiştir. Fermente gilaburu örneklerinin briks, indirgen şeker ve pH değerlerinin taze örneklerle biraz düşük olduğu belirlenmiştir. Bu düşüş, ortamda bulunan LAB’nin şekerleri kullanarak laktik aside dönüştürmesiyle açıklanabilir. Ancak fermente ürünlerdeki toplam asitliğin taze gilaburuya göre düşük olması, 4 ay gibi uzun bir süre devam eden karışık fermentasyonda, LAB tarafından oluşturulan laktik asit ile ortamdaki diğer organik asitlerin, fermentasyon ortamındaki mayalarca okside edilerek, buffer etkisi yapmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yine kül, ham selüloz ve yağ miktarlarında kısmi bir azalma varken protein değerlerinde önemli ölçüde azalma olduğu tespit edilmiştir. Taze gilaburu örneklerinde

protein miktarları yaklaşık 1.5 g/kg düzeylerinde iken fermente örneklerde ise 0.5 g/kg düzeylerinde olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte etil alkol miktarının 0.20-1.80 g/L arasında değiştiği saptanmıştır.

Tablo 4. 2. Kayserinin farklı bölgelerinden taze olarak toplanan ve laboratuvar şartlarında fermente edilen gilaburu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri

Örnek	°Briks	pH	Asitlik	İndirgen şeker	Protein	Kül	Ham selüloz	Yağ	Etil alkol
F1	9.50±0.00	3.09±0.00	1.51±0.00	59.24±0.17	0.58±0.01	0.35±0.01	0.51±0.01	0.33±0.00	1.23±0.01
F2	9.40±0.00	3.12±0.00	1.99±0.00	63.15±0.17	0.49±0.01	0.37±0.01	0.54±0.00	0.31±0.00	0.99±0.00
F3	8.45±0.05	3.10±0.00	1.62±0.00	62.50±0.41	0.48±0.01	0.45±0.01	0.65±0.01	0.28±0.00	1.08±0.02
F4	8.55±0.05	3.21±0.00	1.77±0.01	53.33±0.25	0.44±0.01	0.34±0.01	0.59±0.01	0.31±0.01	1.56±0.01
F5	9.30±0.00	3.13±0.00	1.36±0.01	42.51±0.53	0.51±0.01	0.42±0.01	0.64±0.01	0.33±0.00	1.46±0.00
F6	9.05±0.05	3.13±0.00	1.58±0.01	61.79±0.29	0.46±0.01	0.44±0.01	0.66±0.01	0.30±0.01	1.80±0.01
F7	8.75±0.05	3.09±0.00	1.62±0.01	56.60±0.44	0.40±0.01	0.46±0.01	0.52±0.01	0.29±0.01	0.37±0.00
F8	8.90±0.00	3.04±0.00	1.77±0.01	54.57±0.41	0.54±0.01	0.49±0.01	0.51±0.01	0.31±0.01	0.35±0.01
F9	8.00±0.00	3.05±0.00	1.62±0.00	53.44±0.36	0.42±0.01	0.45±0.01	0.52±0.00	0.29±0.01	0.20±0.01
F10	9.60±0.00	2.96±0.00	2.16±0.01	67.07±0.33	0.42±0.01	0.51±0.01	0.54±0.01	0.29±0.00	0.84±0.01

F1-F10: Taze olarak temin edilip fermentasyona bırakılan gilaburu örnekleri, Asitlik: %, İndirgen Şeker: g/kg, Kül: %, Protein: g/kg, Ham selüloz: %, Yağ: %, Etil alkol: g/L

Kayseri'nin farklı bölgelerinden fermente edilmiş olarak toplanan gilaburu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri Tablo 4.3' te verilmiştir. Bu örneklerden elde edilen sonuçlar, laboratuvar şartlarında fermente edilen örneklerin sonuçlarına benzer durumdadır. Bu örneklerin briks değerleri 7.60-10.0 arasında değiştiği saptanmıştır. pH değerleri benzerlik gösterirken tüm örneklerin toplam asitlik değerlerinin %2'nin altında olduğu saptanmıştır. Etil alkol değerleri incelendiğinde ise üç örneğin alkol miktarlarının 1 g/L'in üzerinde olduğu bulunmuştur.

Tablo 4. 3. Kayserinin farklı bölgelerinden fermente edilmiş olarak toplanan gilaburu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri

Örnek	°Briks	pH	Asitlik	İndirgen şeker	Protein	Kül	Ham selüloz	Yağ	Etil alkol
F11	9.45±0.05	3.14±0.01	1.56±0.00	48.54±0.40	0.51±0.01	0.34±0.01	0.49±0.01	0.33±0.00	0.65±0.01
F12	9.35±0.05	3.15±0.00	1.85±0.01	60.55±0.32	0.47±0.01	0.37±0.01	0.54±0.00	0.32±0.00	0.98±0.01
F13	8.40±0.00	3.12±0.01	1.59±0.01	58.65±0.44	0.47±0.01	0.44±0.01	0.64±0.01	0.28±0.01	1.09±0.02
F14	8.50±0.00	3.10±0.00	1.60±0.01	61.61±0.34	0.40±0.01	0.38±0.00	0.59±0.05	0.32±0.01	0.72±0.01
F15	8.70±0.00	3.15±0.00	1.64±0.01	57.96±0.50	0.36±0.01	0.46±0.00	0.52±0.00	0.29±0.01	0.62±0.01
F16	8.45±0.05	3.19±0.00	1.71±0.00	55.74±0.13	0.54±0.01	0.52±0.01	0.54±0.01	0.26±0.01	1.13±0.01
F17	10.0±0.00	2.99±0.01	1.96±0.00	69.16±0.41	0.47±0.00	0.41±0.01	0.52±0.01	0.29±0.00	0.78±0.01
F18	8.80±0.00	3.12±0.00	1.78±0.00	58.60±0.41	0.45±0.01	0.45±0.01	0.54±0.00	0.26±0.01	1.87±0.01
F19	8.10±0.00	2.96±0.00	1.82±0.01	54.00±0.23	0.53±0.01	0.47±0.01	0.52±0.01	0.28±0.01	0.85±0.01
F20	7.60±0.00	2.93±0.01	1.60±0.01	52.69±0.31	0.48±0.01	0.51±0.01	0.53±0.01	0.28±0.00	0.82±0.01

F11-F20: Piyasadan toplanan fermente gilaburu örnekleri, Asitlik: %, İndirgen Şeker: g/kg, Kül: %, Protein: g/kg, Ham selüloz: %, Yağ: %, Etil alkol: g/L

Tablo 4. 4. Kayserinin farklı bölgelerinden toplanan taze gilaburu örneklerinin biyoaktif özellikleri

Örnek	Askorbik asit	Toplam fenolik	Antioksidan aktivite	Antiradikal aktivite
T1	58.97±0.15	560.76±4.39	24.10±0.15	76.52±0.14
T2	56.40±0.22	542.42±4.24	18.88±0.27	73.85±0.44
T3	53.86±1.04	552.42±5.15	19.59±0.39	73.44±0.85
T4	53.40±1.26	516.29±4.92	20.92±0.39	71.98±0.48
T5	54.61±0.47	528.85±4.48	21.42±0.29	71.80±0.43
T6	50.82±1.24	512.58±5.30	19.32±0.27	72.93±0.20
T7	53.23±1.55	505.00±4.09	18.15±0.29	72.21±0.11
T8	49.00±0.98	500.83±4.92	19.39±0.30	72.84±0.56
T9	50.89±0.17	491.20±4.56	18.71±0.39	74.14±0.46
T10	59.82±1.08	579.71±4.53	21.26±0.38	76.45±0.33

T: Taze gilaburu örnekleri, Askorbik asit: mg/100 mL, Toplam fenolik: mg Gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 mL, Antioksidan aktivite: mg Askorbik asit eşdeğeri (AAE)/mL, Antiradikal aktivite: % inhibisyon

4.1.2. Biyoaktif Özellikleri

Gilaburu örneklerinin biyoaktif özellikleri incelendiğinde (Tablo 4.4 ve 4.5) ise askorbik asidin 49-59.82 mg/100 mL arasında olduğu sadece bir örneğin 50 mg/100 mL'nin altında olduğu bulunmuştur. Antioksidan aktivitesinin 18.15-24.10 mg askorbik asit eşdeğeri (AAE)/mL arasında olduğu tespit edilmiştir. Antiradikal diğer bir ifade ile serbest radikal süpürme etkisinin %71.80 - 76.52 arasında olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte gilaburu örneklerindeki toplam fenolik içeriğinin yüksek olduğu bu değerlerin yaklaşık 491.20- 579.71 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 mL arasında olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4. 5. Kayserinin farklı bölgelerinden taze olarak toplanan ve laboratuvar şartlarında fermente edilen gilaburu örneklerinin biyoaktif özellikleri

Örnek	Askorbik asit	Toplam fenolik	Antioksidan aktivite	Antiradikal aktivite
F1	33.65±0.50	588.18±5.45	18.44±0.60	61.11±1.05
F2	31.45±0.78	578.95±5.91	15.22±0.39	58.29±0.89
F3	34.20±0.46	604.09±6.23	14.50±0.59	64.62±0.96
F4	33.49±0.55	558.50±6.18	14.20±0.26	63.21±0.97
F5	31.59±0.55	565.00±6.05	12.16±0.40	64.83±0.71
F6	31.82±0.84	553.50±5.00	15.16±0.25	61.66±0.33
F7	32.82±0.60	541.09±6.05	16.91±0.38	63.38±1.08
F8	28.66±0.78	540.14±6.82	15.48±0.39	63.66±0.86
F9	29.53±0.78	521.82±6.14	14.05±0.37	64.76±1.01
F10	35.30±0.73	608.50±5.59	18.05±0.34	70.95±0.95

F1-F10: Piyasadan toplanan fermente gilaburu örnekleri, Askorbik asit: mg/100 mL, Toplam fenolik: mg Gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 mL, Antioksidan aktivite: mg Askorbik asit eşdeğeri (AAE)/mL, Antiradikal aktivite: % inhibisyon

Kayseri'nin farklı bölgelerinden taze olarak toplanan ve laboratuvar şartlarında fermente edilen gilaburu örneklerinin biyoaktif özellikleri incelendiğinde ise, askorbik asit, antioksidan ve antiradikal aktivite değerlerinde fermentasyon sonucunda taze örneklerle göre bir azalma meydana gelirken toplam fenolik madde miktarında ise bir artış olduğu belirlenmiştir. Askorbik asit düzeyinde yüksek bir azalma (yaklaşık %40) meydana gelirken, antioksidan ve antiradikal aktivite değerlerinde azalış daha düşük düzeylerde olmuştur (Tablo 4.5).

Yine Kayserinin farklı bölgelerinden fermente edilmiş olarak toplanan gilaburu örneklerinin biyoaktif özellikleri de Tablo 4.6 'da gösterilmiş olup, bu biyoaktif özellikleri de fizikokimyasal özelliklerinde olduğu gibi laboratuvar şartlarında fermente edilen örneklerle yakın bulunmuştur. Yine burada da toplam fenolik madde miktarının yüksek olduğu saptanmıştır.

Tablo 4. 6. Farklı yerlerden fermente olarak temin edilen gilaburu örneklerinin biyoaktif özellikleri

Örnek	Askorbik asit	Toplam fenolik	Antioksidan aktivite	Antiradikal aktivite
F11	33.69±0.50	559.09±5.45	16.04±0.60	60.90±1.05
F12	31.86±0.78	566.82±5.91	15.48±0.39	58.57±0.89
F13	34.75±0.46	570.77±6.23	16.05±0.59	64.37±0.96
F14	35.39±0.55	587.73±6.18	14.43±0.26	70.44±0.97
F15	34.11±0.55	540.32±6.05	16.45±0.40	63.45±0.71
F16	40.41±0.84	617.73±5.00	16.58±0.25	70.41±0.33
F17	33.33±0.60	491.50±6.05	14.33±0.38	62.81±1.08
F18	34.43±0.78	559.55±6.82	17.41±0.39	71.48±0.86
F19	30.40±0.78	516.14±6.14	15.33±0.37	68.12±1.01
F20	36.82±0.73	591.68±5.59	17.81±0.34	60.25±0.95

F: Piyasadan toplanan fermente gilaburu örnekleri, Askorbik asit: mg/100 mL, Toplam fenolik: mg Gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 mL, Antioksidan aktivite: mg Askorbik asit eşdeğeri (AAE)/mL, Antiradikal aktivite: % inhibisyon

Gilaburu yöresel olarak 4 ay fermente edildikten sonra tüketilen bir meyve suyudur. Bizim çalışmamızda laboratuvarında kontrollü olarak spontan fermentasyona tabi tutulan 10 adet örnek ile piyasadan fermente olarak sağlanan 10 adet örnek olmak üzere toplam 20 adet örnekte duyuusal analiz yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.7' de gösterilmiştir.

Tablodan görüldüğü gibi örneklerin renk ve görünüm, tat, koku ve genel beğeni özellikleri 8 adet gilaburu meyve suyunu tanıyan ve tüketen eğitimli panelistler tarafından değerlendirilmiştir. Bu örnekler içerisinde F2, F3, F5, F14, F17 ve F18 nolu örneklerin daha

fazla beğenildiği gözlenmiş ve bu örneklerin genel beğeni açısından 3.4 ve üzerinde skorlar aldığı belirlenmiştir.

Tablo 4. 7. Fermente gilaburu örneklerinin duysal özellikleri

Örnek	Renk ve Görünüm	Tat	Koku	Genel Beğeni
F1	2.5±0.8	3.3±0.9	2.9±0.8	3.1±0.8
F2	3.5±0.8	2.9±0.8	3.4±0.5	3.4±0.5
F3	4.0±0.0	3.6±0.5	4.0±0.0	4.0±0.0
F4	3.1±1.0	2.8±1.5	2.9±1.0	3.0±1.2
F5	4.8±0.7	3.6±1.3	3.9±1.1	4.1±1.0
F6	3.1±0.6	2.5±0.9	3.5±0.8	2.9±0.6
F7	2.4±0.9	3.1±1.0	3.0±1.2	3.1±1.0
F8	2.0±0.8	1.9±0.8	2.1±1.4	2.1±1.0
F9	1.8±0.7	2.1±1.0	2.5±1.2	2.1±0.8
F10	4.1±0.6	2.4±1.4	2.4±1.1	2.8±1.2
F11	2.0±0.9	2.3±1.0	2.6±1.2	2.4±1.1
F12	2.3±1.0	2.1±0.6	2.6±1.1	2.3±0.7
F13	2.8±0.9	2.1±1.1	2.6±1.2	2.6±1.1
F14	4.5±0.8	3.0±0.9	3.9±0.8	3.5±0.5
F15	2.5±0.8	2.0±0.5	3.0±1.1	2.4±0.5
F16	4.0±0.5	2.5±0.9	3.1±0.8	2.8±0.7
F17	4.5±0.5	3.5±1.2	3.1±1.1	3.8±1.0
F18	3.8±0.7	3.1±1.0	3.6±0.9	3.5±0.5
F19	3.8±0.7	2.8±0.5	3.5±0.5	3.1±0.6
F20	4.1±0.6	2.8±0.9	3.4±1.3	3.1±0.8

F1-F10: Taze olarak temin edilip laboratuvar şartlarında geleneksel fermentasyona bırakılan gilaburu örnekleri, F11-F20: Piyasadan fermente edilmiş olarak toplanan gilaburu örnekleri.

Puanlandırma; 4-5 arası: Çok beğendim, 3-4 arası: Beğendim, 2-3 arası: Orta derecede beğendim, 1-2: arası: Beğenmedim, 1: Hiç beğenmedim.

Tüm fermente gilaburu örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri Tablo 4.8’ de verilmiştir. Tabloda görüldüğü üzere örneklerde; *S. aureus*, koliform, *E. coli* ve *Alicyclobacillus* spp. ’ye rastlanmamıştır. Toplam mezofil aerob bakteri sayısı 5.73-8.97 (log kob/ml) arasında tespit edilirken maya-küf sayısı ise 5.00-7.58 (log kob/ml) olarak tespit edilmiştir. Laktik asit bakteri sayıları açısından ele alındığında ise, örneklerin 3.92 ile 8.44 kob/mL arasında değişen LAB içeriğine sahip oldukları görülmesine karşın, 15 adet örnekte 6 log kob/mL’den daha yüksek bir LAB içeriği tespit edilmiştir. En düşük LAB sayısı ise F3, F9 ve F19 örneklerinde, sırasıyla 3.92, 4.98 ve 4.45 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Ayrıca fermente gilaburu örneklerinin salamuralarının pH’ları ölçülmüş olup Tablo 4.8’ de verilmiştir.

Örneklerin salamuralarının pH'ları en düşük 3.36 (F20) iken en yüksek 4.44 (F10) olarak bulunmuştur. Bu pH değerleri laktik asit bakterilerinin gelişiminde etkili önemli bir faktördür. Salamuranın pH değerleri, gilaburu meyvelerinin pH değerlerinden daha yüksektir.

Tablo 4. 8. Fermente gilaburu örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri (log kob/mL)

Örnek	Salamura pH	TMAB	Maya-Küf	LAB (MRS Agarda)	<i>S. aureus</i>	Koliform	<i>E. coli</i>	<i>Alicyclobacillus</i> spp.
F1	4.00±0.00	7.30±0.07	5.00±0.02	6.71±0.08	<1	<1	<1	<1
F2	3.66±0.00	6.32±0.16	5.03±0.04	6.57±0.19	<1	<1	<1	<1
F3	3.61±0.00	5.73±0.05	5.11±0.01	3.92±0.11	<1	<1	<1	<1
F4	3.64±0.01	6.94±0.02	5.64±0.23	6.07±0.11	<1	<1	<1	<1
F5	3.44±0.01	7.47±0.15	5.99±0.07	6.52±0.12	<1	<1	<1	<1
F6	3.57±0.01	7.15±0.01	5.89±0.03	5.80±0.01	<1	<1	<1	<1
F7	3.56±0.00	7.84±0.04	5.59±0.10	6.99±0.02	<1	<1	<1	<1
F8	4.25±0.00	6.93±0.08	6.55±0.12	6.74±0.06	<1	<1	<1	<1
F9	4.29±0.00	6.34±0.08	6.48±0.01	4.98±0.03	<1	<1	<1	<1
F10	4.44±0.01	6.43±0.12	7.02±0.02	8.03±0.04	<1	<1	<1	<1
F11	3.49±0.00	7.45±0.35	7.24±0.02	6.39±0.12	<1	<1	<1	<1
F12	4.05±0.00	8.97±0.10	6.91±0.18	8.30±0.25	<1	<1	<1	<1
F13	4.43±0.00	8.24±0.09	7.58±0.18	7.83±0.10	<1	<1	<1	<1
F14	3.85±0.01	7.27±0.02	6.31±0.17	8.10±0.15	<1	<1	<1	<1
F15	3.51±0.00	8.27±0.10	7.17±0.05	6.65±0.07	<1	<1	<1	<1
F16	4.21±0.00	7.10±0.02	6.32±0.03	6.36±0.08	<1	<1	<1	<1
F17	3.69±0.00	5.85±0.21	7.01±0.01	5.31±0.43	<1	<1	<1	<1
F18	3.43±0.00	6.25±0.07	7.22±0.11	6.53±0.35	<1	<1	<1	<1
F19	3.50±0.01	6.68±0.03	6.31±0.09	4.45±0.64	<1	<1	<1	<1
F20	3.36±0.00	8.53±0.15	6.75±0.04	8.44±0.13	<1	<1	<1	<1

F1-F10: Taze olarak temin edilip laboratuvar şartlarında geleneksel fermentasyona bırakılan gilaburu örnekleri, F11-F20: Piyasadan fermente edilmiş olarak toplanan gilaburu örnekleri
TMAB: Toplam mezofilik aerobik bakteri, LAB: Laktik asit bakterileri.

4.1.3. Gilaburu Sularının Fenolik Asit ve Flavonoid Miktarları

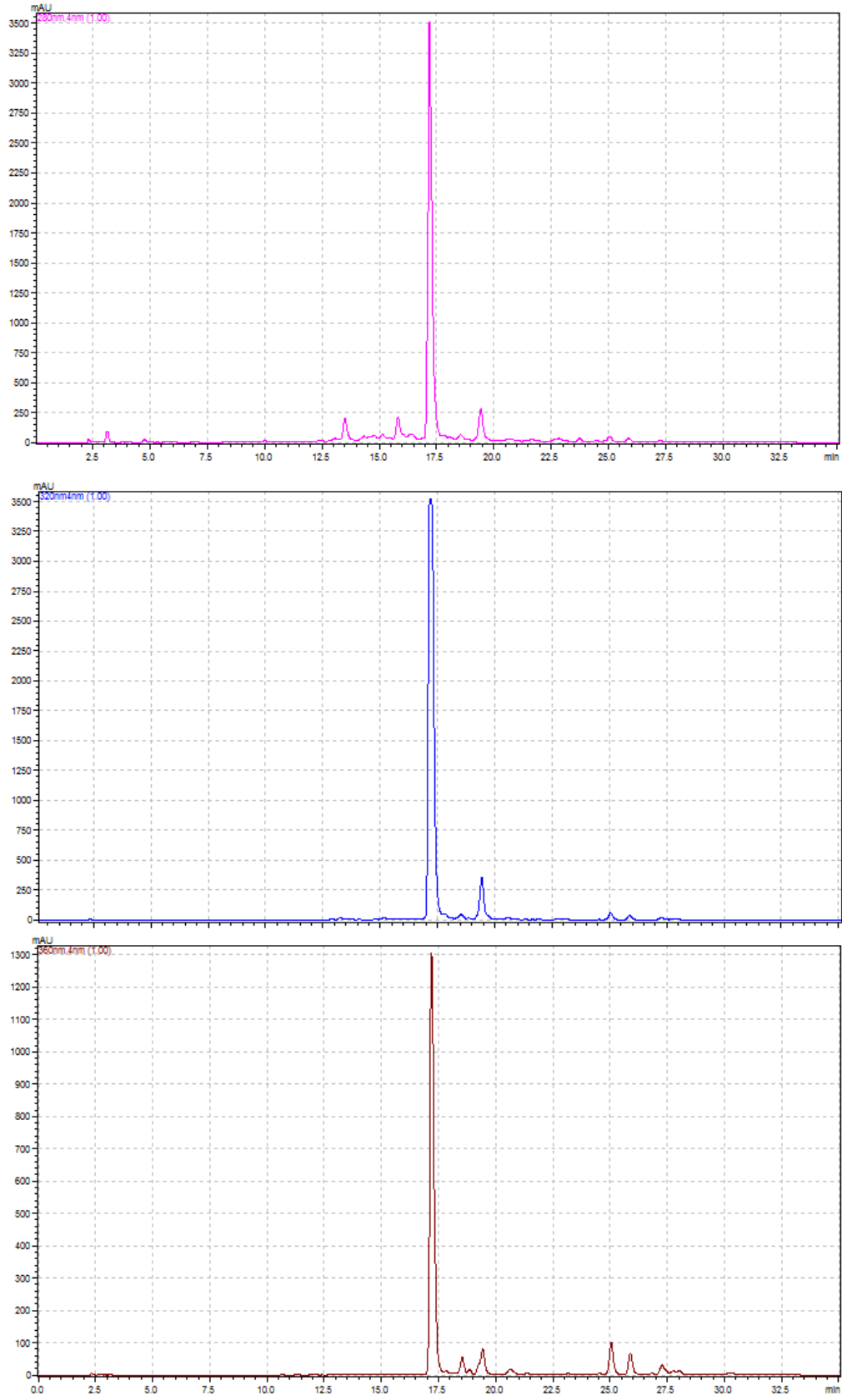
Bazı fermente gilaburu sularına ait 3 farklı dalga boyundaki (280, 320 ve 360 nm) kromatogramlar Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3 'te örnek olarak verilmiştir. Bu şekillerde görüldüğü gibi fermente gilaburu örneklerinin içeriğindeki fenolik asit ve flavonoid spektrumunun dalga boyuna göre farklılık göstermesidir. Bundan dolayı örneklerdeki fenolik asit ve flavonoid miktarları en fazla spektrum gösterdiği dalga boyu baz alınarak belirlenmiştir.

Kayserinin farklı bölgelerinden toplanan gilaburu örneklerinin fenolik asit ve flavonoid miktarları Tablo 4.9 'da ve antosiyanin miktarları ise Tablo 4.10 'da verilmiştir. Tablo 4.9 'da

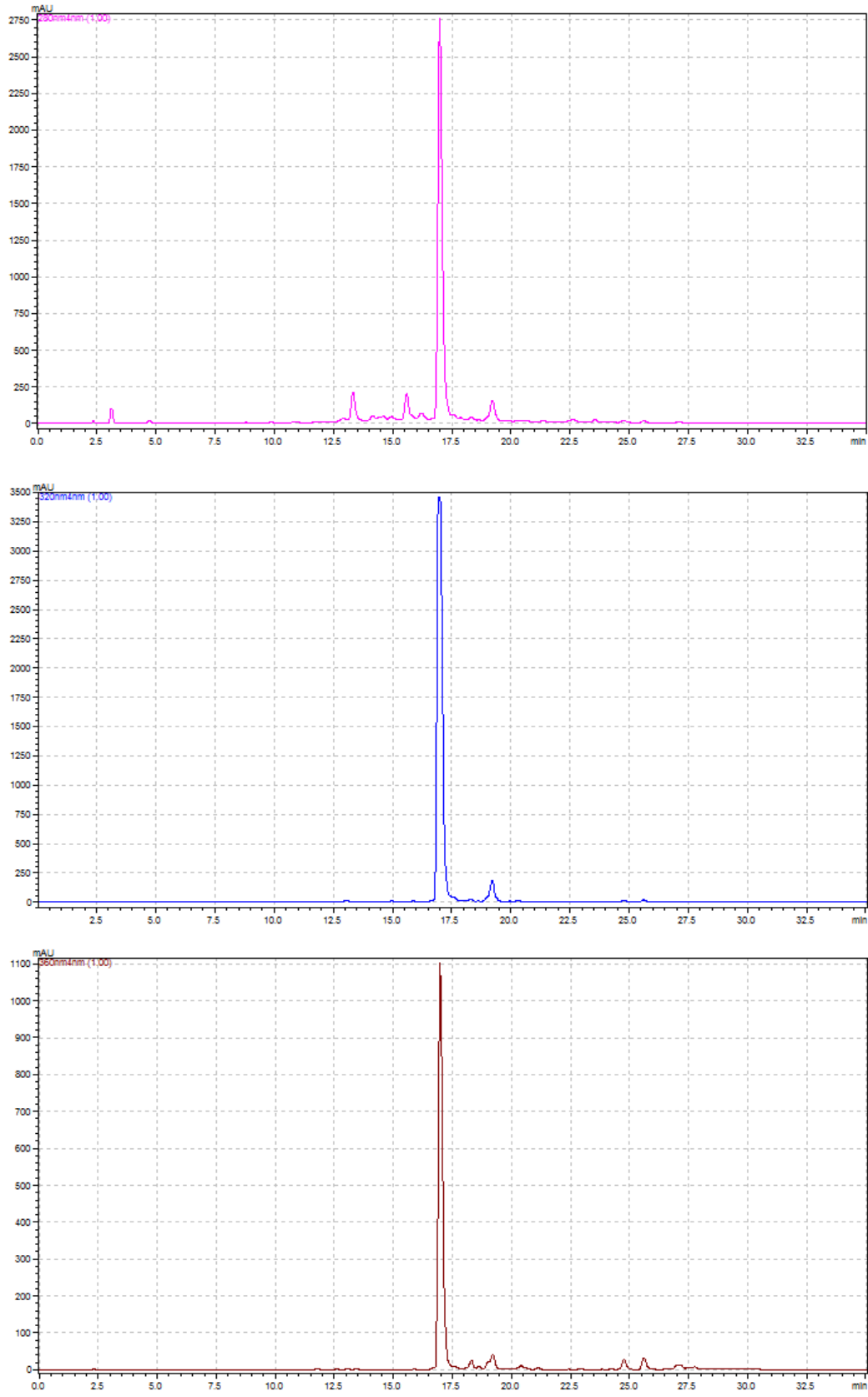
görüldüğü üzere fermente gilaburu örneklerinin major fenolik bileşeni bir fenolik asit olan klorojenik asittir. Tüm gilaburu örneklerinde klorojenik asidin 1600-2556 µg/ml arasında olduğu tespit edilmiştir. Diğer major bileşenlerin kateşin ve kafeoylguinic asit olduğu saptanmıştır. Bunun yanında 7 adet kateşin türevi belirlenirken 5 adet quersitin türevi tespit edilmiştir. Gilaburu örneklerinde en az miktara sahip flavonoidin ise quersitin olduğu tespit edilmiştir. Bu miktar gilaburu örneklerinde 3-6 µg/ml arasında bulunmuştur.

Şekil 4.4 'te siyanidin standardı, hidroliz edilmiş örneğin ve hidroliz edilmemiş örneğin kromatogramları verilmiştir. Hidroliz işlemi sonucunda 2 adet pik elde edilmiştir. Burada 1 nolu pik hidroliz olmadan kalan antosiyanin göstermekte olup pik 2 ise hidroliz işlemi sonucu oluşan siyanidin bileşimini göstermektedir. Ayrıca Şekil 4.5 'de F17 kodlu fermente gilaburu suyu örneğinde siyanidin glikozit olarak tanımlanan bileşiğin ve siyanidin standardının UV-Vis spektrumları örnek olarak verilmiştir.

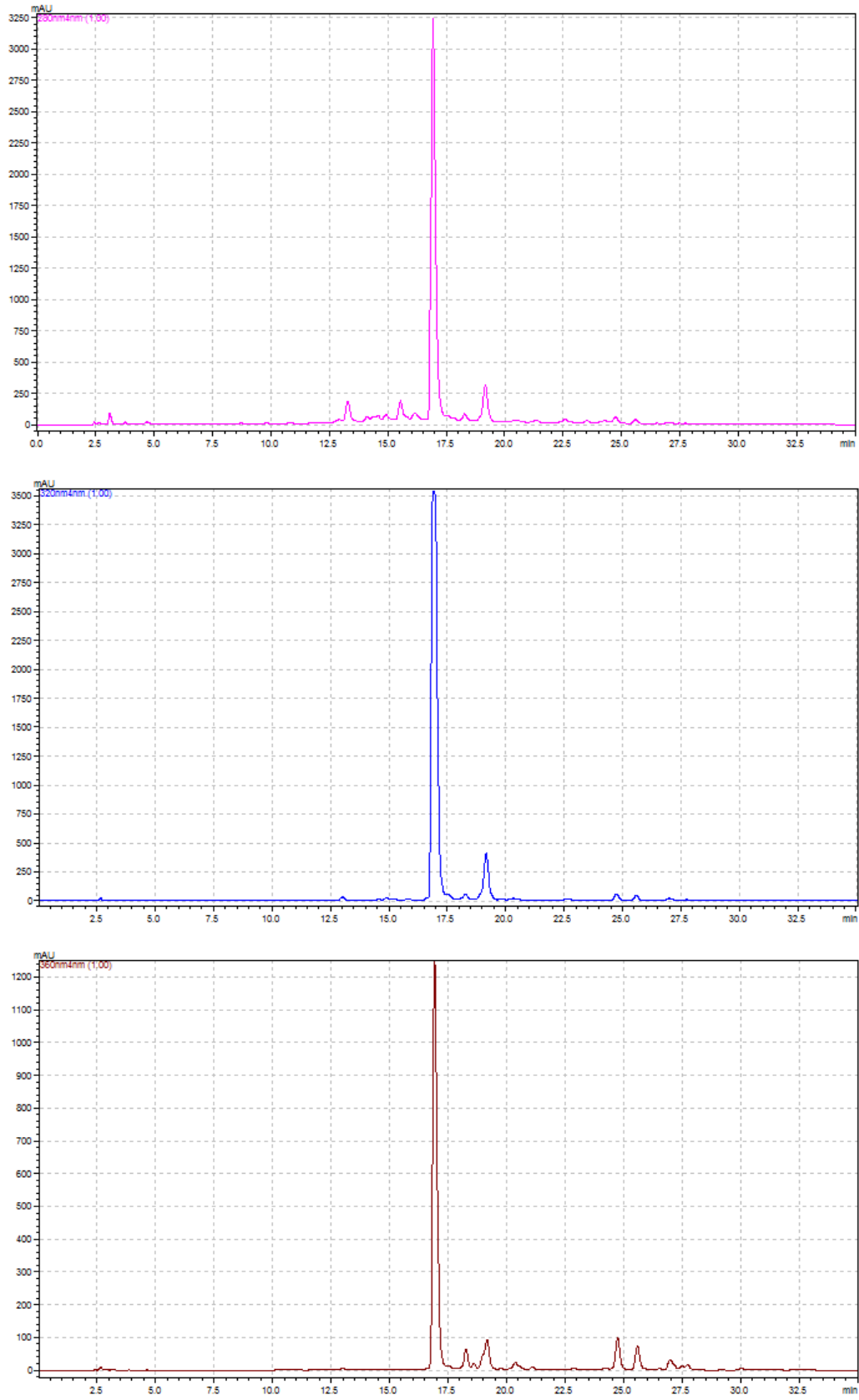
Gilaburu örneklerinde belirlenen major antosiyanidin olarak, siyanidin glikoziti belirlenmiştir. Tablo 4.10' te görüldüğü gibi en fazla siyanidin glikozit F17 kodlu (207.8 µg/ml) örnekte tespit edilirken bunu F20, F12 ve F14 kodlu örnekler takip etmiştir. En az siyanidin ise F1, F4, F7, F9 ve F11 kodlu örneklerde saptanmıştır. Bu örneklerin siyanidin içeriğinin 20 µg/ml'nin altında olduğu tespit edilmiştir.



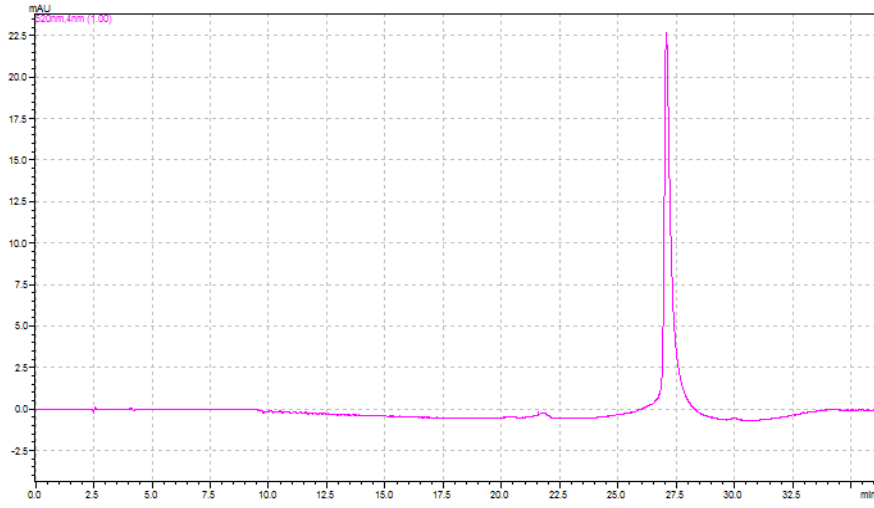
Şekil 4. 1. F6 kodlu fermente gilaburu suyunun fenolik asit ve flavonoid içeriklerine ait 280, 320 ve 360 nm dalga boylarındaki kromatogramlar



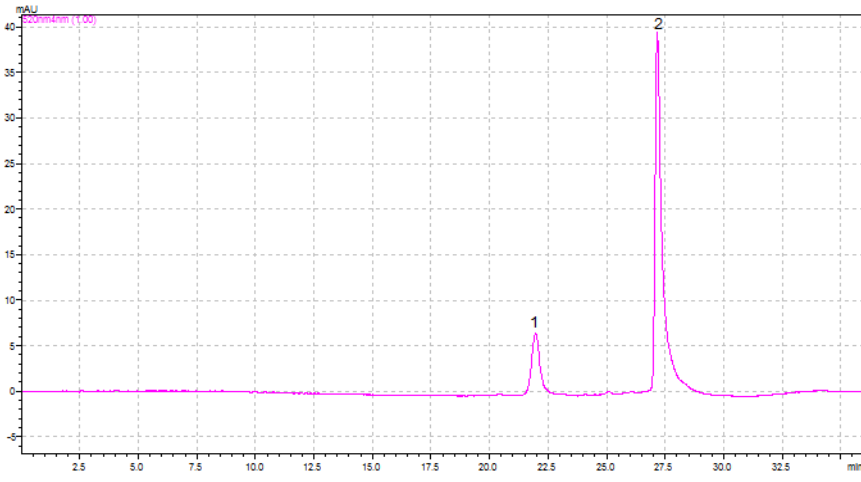
Şekil 4. 2. F11 kodlu fermente gilaburu suyunun fenolik asit ve flavonoid içeriklerine ait 280, 320 ve 360 nm dalga boylarındaki kromatogramlar



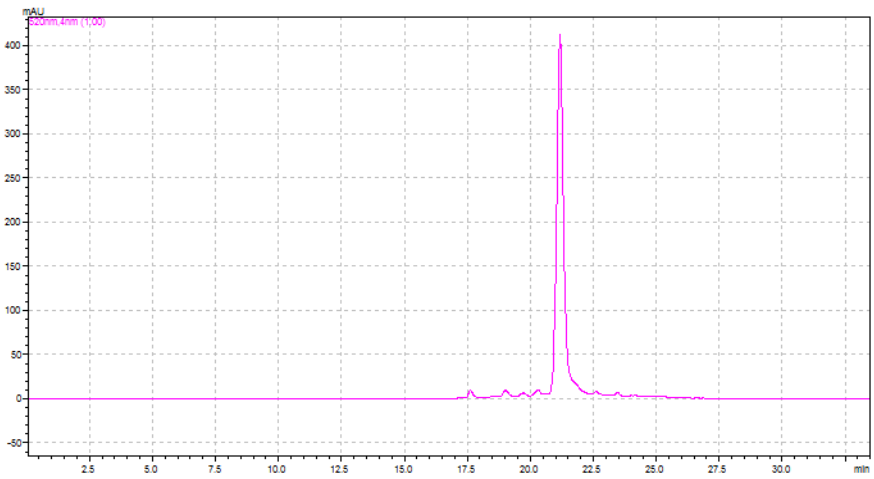
Şekil 4. 3. F18 kodlu fermente gilaburu suyunun fenolik asit ve flavonoid içeriklerine ait 280, 320 ve 360 nm dalga boylarındaki kromatogramlar



A

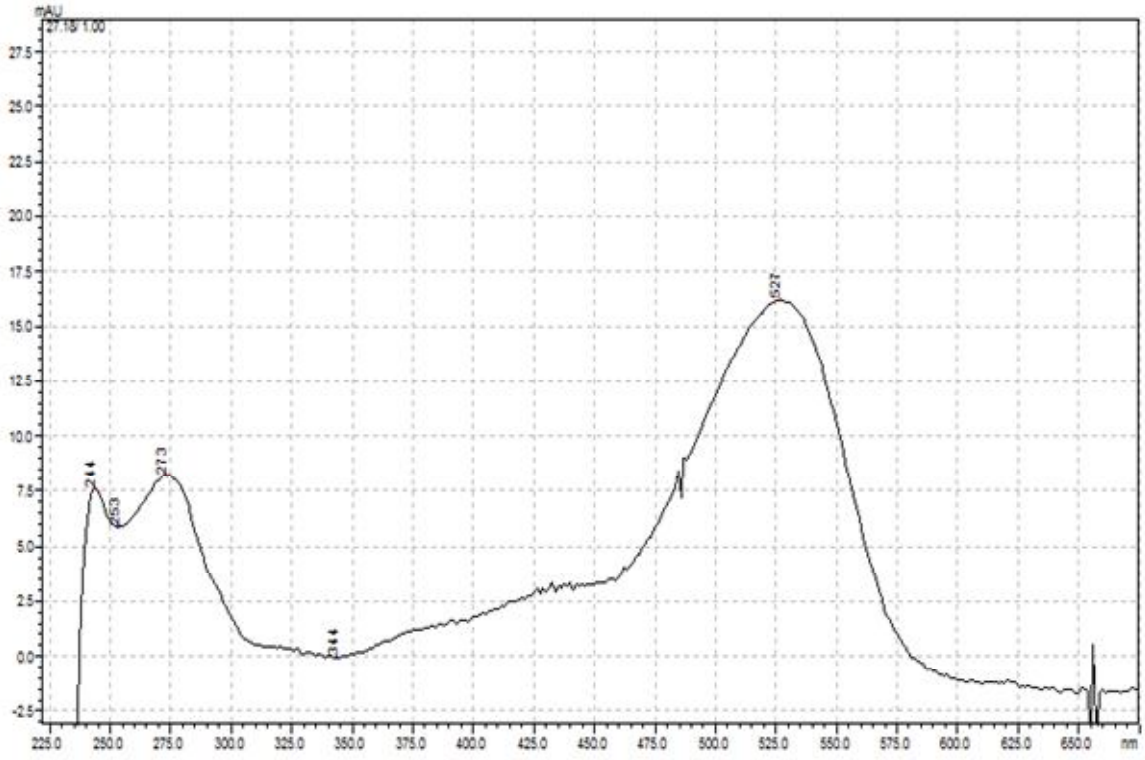


B

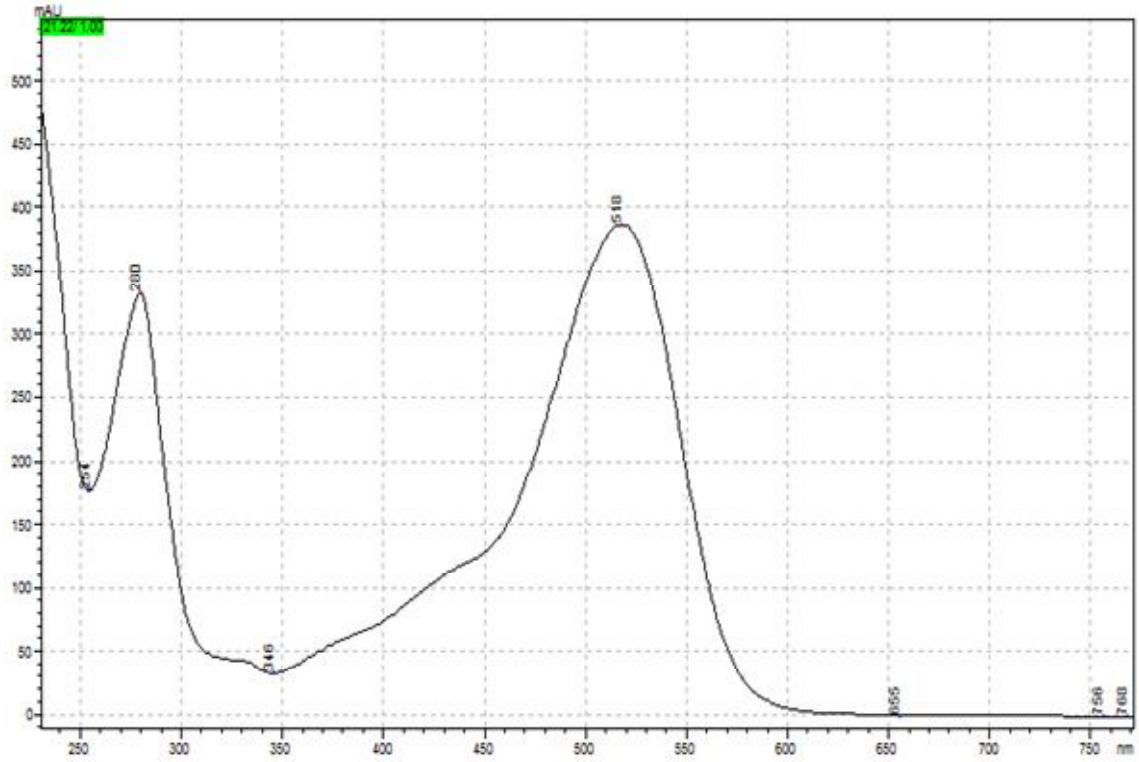


C

Şekil 4. 4. Siyanidin standartının (A), hidroliz olmuş antosiyaninin (B) (hidrolize olmamış antosiyanin (1), hidrolize olmuş antosiyanin (2)) ve F17 kodlu fermente gilaburu suyunun antosiyaninin (C) kromatogramları



A



B

Şekil 4. 5. Siyanidin standardının (A) ve F17 kodlu fermente gilaburu suyu örneğinin (B) spekturumları

Tablo 4. 9. Fermente gilaburu suyu örneklerinin fenolik asit ve flavonoid miktarları (µg/ml)

Örnek	Gallik asit	Kateşin türevi 1	Kateşin türevi 2	Kateşin türevi 3	Kateşin türevi 4	Kateşin türevi 5	Kateşin türevi 6	Kateşin türevi 7	Kateşin	Klorojenik asit	Kafeoylguinic asit	Kafeik asit	Şirincik asit	Ferulik asit	p-kumarik sit	Quersetin türevi 1	Quersetin türevi 2	Quersetin türevi 3	Quersetin türevi 4	Quersetin türevi 5	Quersetin
F1	-	39.75	206.39	23.04	30.96	25.24	70.45	30.27	180.11	1600.06	34.19	-	-	-	-	12.99	11.87	8.40	4.87	5.31	5.86
F2	-	48.06	245.07	27.85	34.59	33.74	92.41	38.22	217.90	2209.74	55.51	-	-	-	-	11.93	11.60	7.92	4.51	4.82	4.71
F3	-	39.52	221.75	21.17	39.10	31.49	75.41	44.16	206.30	2227.84	83.08	-	-	-	-	27.84	21.14	14.54	6.48	7.78	4.50
F4	-	39.71	225.59	23.19	28.92	28.40	69.02	33.93	197.19	1756.62	60.89	-	-	-	-	17.65	14.02	9.93	5.15	5.36	4.64
F5	-	41.70	174.01	19.59	18.86	23.20	53.12	21.06	141.18	1322.48	27.81	-	-	-	-	16.73	13.88	8.95	5.16	5.40	3.93
F6	-	39.78	224.81	20.87	43.74	44.06	80.84	46.73	218.16	2207.40	76.16	-	-	-	-	26.32	19.36	12.39	5.98	6.67	7.68
F7	-	44.15	194.93	17.79	32.28	26.61	66.93	35.02	180.88	2021.54	41.53	-	-	-	-	18.09	15.81	9.98	5.33	6.03	4.41
F8	-	37.95	206.23	17.81	44.33	27.78	70.35	41.92	206.57	2373.42	68.77	-	-	-	-	13.05	11.54	8.22	4.62	4.89	3.87
F9	-	42.31	238.79	21.19	45.31	41.48	72.31	40.85	217.68	2242.88	66.25	-	-	-	-	18.08	14.76	9.67	4.89	5.38	3.87
F10	-	41.00	265.88	26.36	49.17	30.66	74.91	49.88	213.69	1728.64	75.01	-	-	-	-	15.41	14.68	8.78	4.70	5.09	3.72
F11	-	42.06	243.58	25.60	38.09	22.83	59.10	29.26	208.98	1721.78	38.66	-	-	-	-	11.28	12.46	8.42	5.22	5.33	5.99
F12	-	41.64	265.00	29.41	50.87	43.52	68.18	52.87	238.19	2238.60	80.32	-	-	-	-	21.48	19.70	10.45	5.48	6.08	3.89
F13	-	29.16	199.42	16.42	44.92	23.82	46.37	34.78	196.28	2203.06	62.95	-	-	-	-	10.31	9.65	7.06	4.31	4.37	3.84
F14	-	40.19	259.15	27.87	53.88	40.44	59.26	53.32	230.65	2556.10	78.40	-	-	-	-	21.05	18.05	10.39	5.42	5.80	4.39
F15	-	38.54	201.81	18.70	45.39	29.36	65.31	48.06	169.45	2301.98	69.07	-	-	-	-	22.73	20.64	12.00	6.44	7.20	5.28
F16	-	58.77	313.93	42.78	42.48	27.14	84.57	41.20	221.39	1697.88	50.98	-	-	-	-	10.17	11.27	7.13	4.59	4.49	3.81
F17	-	44.42	268.53	27.57	38.14	53.50	78.02	48.19	229.05	2218.64	87.76	-	-	-	-	32.47	22.30	16.53	6.17	8.11	4.27
F18	-	41.47	219.98	24.32	48.93	53.55	97.04	63.97	225.81	2213.12	73.19	-	-	-	-	27.77	21.75	13.34	6.28	7.35	5.96
F19	-	51.42	282.37	36.24	19.17	32.01	68.10	34.23	205.50	1761.54	38.66	-	-	-	-	12.40	12.42	7.61	4.72	5.13	3.98
F20	-	36.26	228.69	22.06	23.95	29.52	64.92	36.76	215.82	2323.30	58.95	-	-	-	-	20.79	15.76	8.89	5.20	5.86	4.52

F1-F10: Taze olarak temin edilip laboratuvar şartlarında geleneksel fermentasyona bırakılan gilaburu örnekleri, F11-F20: Piyasadan fermente edilmiş olarak toplanan gilaburu örnekleri, -: belirlenemedi

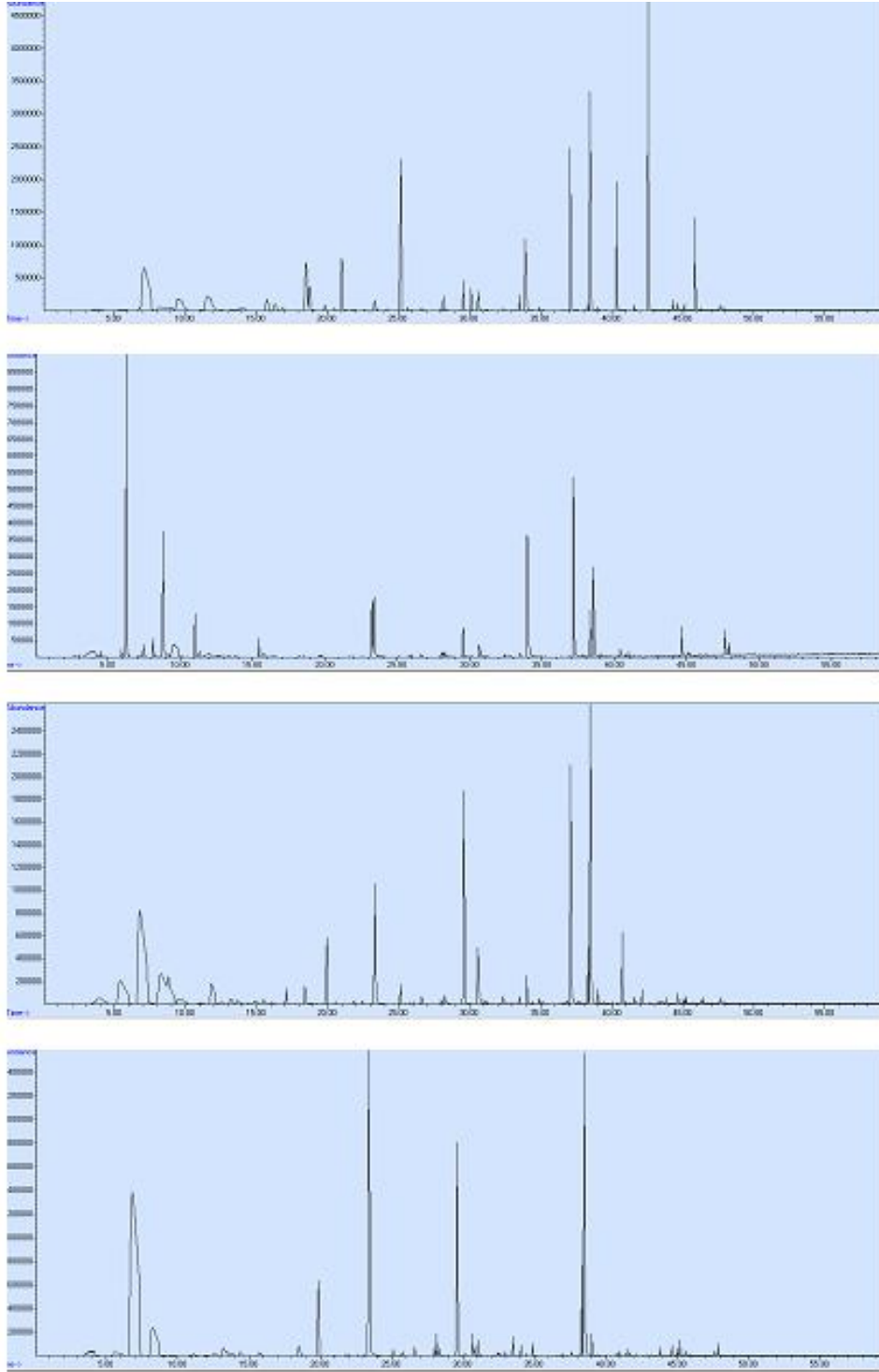
Tablo 4. 10. Fermente gilaburu suyu örneklerinin antosiyanin miktarları (µg/ml)

Örnek	Siyanidin glikozit	Malvidin glikozit	Pelargonidin glikozit	Delfinidin glikozit
F1	18.0	-	-	-
F2	35.6	-	-	-
F3	45.0	-	-	-
F4	12.8	-	-	-
F5	42.6	-	-	-
F6	21.7	-	-	-
F7	12.3	-	-	-
F8	21.9	-	-	-
F9	16.2	-	-	-
F10	36.7	-	-	-
F11	17.7	-	-	-
F12	83.1	-	-	-
F13	35.2	-	-	-
F14	78.4	-	-	-
F15	66.0	-	-	-
F16	45.8	-	-	-
F17	207.8	-	-	-
F18	71.1	-	-	-
F19	56.9	-	-	-
F20	110.8	-	-	-

F1-F10: Taze olarak temin edilip laboratuvar şartlarında geleneksel fermentasyona bırakılan gilaburu örnekleri, F11-F20: Piyasadan fermente edilmiş olarak toplanan gilaburu örnekleri, -: belirlenmedi

4.1.4. Gilaburu Sularının Uçucu Aroma Özellikleri

F8, F9, F11 ve F19 kodlu fermente gilaburu örneklerine ait GS-MS ile saptanan aroma bileşenlerine ait kromatogramlar örnek olarak Şekil 4.6 'de kapsatılmıştır. Tablo 4.11 'de tüm fermente gilaburu örneklerinin aroma bileşenleri verilmiştir. Örneklerde toplam 160 adet uçucu aroma bileşeni tespit edilmiştir. Bu örneklerde major aroma bileşenleri olarak etil asetat, isovalerik asit, butirik asit, etil propiyonat, 2- oktanon, etil alkol ve 2-oktanol belirlenmiştir. Aroma bileşenleri sınıflandırıldığında ise; asitler, esterler ve alkollerin aroma kompozisyonunun büyük bir kısmını oluşturduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4. 6. F8, F9, F11 ve F19 kodlu fermente gilaburu sularına ait GC-MS kromatogramları

Tablo 4. 11. Gilaburu suyu örneklerinin uçucu aroma bileşenleri (%)

Uçucu bileşenler	Örnekler																			
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15	F16	F17	F18	F19	F20
Aldehitler																				
Nonanal	0.58	0.34	1.38	0.37	1.34	0.42	-	0.08	0.34	0.50	0.39	0.64	0.09	0.47	0.44	0.44	0.86	0.48	0.24	0.67
Furfural	0.10	0.07	0.06	0.09	0.04	-	0.09	0.06	-	0.11	0.05	0.07	0.04	0.04	-	0.04	0.08	0.18	-	-
Hexanal	0.22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.13	-	-	-
n-Oktanal	-	-	-	-	0.12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Limonen Aldehit	-	-	-	-	-	0.91	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzaldehit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-
Asetaldehit, O-ethyloxime-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	-	-	-	-	-	-	-
Pentanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.31	0.84	0.15	-	-	-
n-decanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.11	0.10	-	-
Hexenal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.21	-	-
Esterler																				
Asetik asit, metil ester	-	1.05	1.09	0.74	0.06	-	0.44	0.24	-	1.08	-	1.05	-	0.81	1.31	-	0.67	0.80	0.86	1.53
Etil asetat	6.80	13.98	20.00	29.78	21.13	15.96	12.21	1.08	0.35	1.76	24.59	-	-	29.20	18.22	-	37.98	43.60	41.16	55.75
Etil propiyonat	1.53	8.98	-	-	26.77	2.60	18.97	0.86	2.03	3.10	3.96	0.74	-	4.08	-	2.00	6.03	-	-	-
Metil Butanoate	1.14	-	0.40	-	-	-	-	-	-	2.24	-	-	-	-	-	-	0.31	-	-	-
Metil pentanoate	-	-	0.42	0.33	-	-	-	0.59	-	0.30	-	0.38	0.57	-	-	-	0.23	0.41	-	-
Etil butanoate	4.57	2.41	2.38	-	2.29	-	2.95	-	-	2.70	2.95	-	-	-	-	-	1.53	-	-	-
Etil-2metilbutyrate	0.29	0.39	0.56	0.44	0.48	-	0.58	-	-	0.83	0.16	-	0.16	0.19	0.34	0.60	0.21	1.20	0.23	0.18
Etil Isovalerate	0.73	0.72	1.30	1.17	1.07	0.41	1.34	0.15	-	0.80	0.50	0.34	0.23	0.20	1.05	1.03	0.86	4.02	0.83	0.57
Isoamyl asetat	-	-	0.40	0.38	0.33	-	0.34	-	-	-	0.39	-	-	-	0.52	-	0.24	0.22	0.30	0.36
Isopentyl formate	1.40	3.88	6.68	4.52	-	1.69	3.77	0.41	-	1.46	3.34	2.12	0.18	2.36	3.13	0.65	5.60	4.01	4.51	3.09
Etil hexanoate	-	-	0.09	-	-	-	-	4.65	-	-	-	-	3.43	-	-	-	0.10	-	-	-
Phenethyl cinnamate	-	-	0.27	-	0.53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.12	-
Etil octanoate	-	-	0.73	0.06	0.11	0.07	0.07	0.85	-	-	-	-	0.69	-	-	0.06	0.07	0.04	0.25	0.15
Nonanyl asetat	-	-	0.09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.07
o- Guaiacol asetat	0.04	0.03	-	-	-	0.04	-	-	-	0.08	-	0.08	-	0.04	0.03	-	0.04	0.02	-	-
Metil 2-hydroxydecanoate	0.12	0.08	0.07	0.06	0.05	0.04	-	-	0.06	0.11	0.07	0.20	0.03	0.10	0.25	0.10	0.15	0.35	0.11	0.14
Metil salicylate	0.10	0.11	0.21	0.04	0.06	-	0.16	0.02	-	-	0.04	0.06	-	0.04	0.08	0.08	0.07	0.29	0.05	0.05
Asetik asit, sec-octyl ester	-	-	-	0.06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Etil dodecanoate	-	-	-	0.12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Octyl formate	-	-	-	0.15	-	-	-	0.10	0.02	0.14	-	-	-	0.09	0.34	-	-	-	-	-
Fenil etil isobutanoate	-	-	-	0.02	-	-	-	-	-	-	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Fenil etil butanoate	-	-	-	-	0.13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Etil lactate	0.06	-	-	-	0.28	-	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	-	-	-	-
Etil pentanoate	-	-	-	-	0.18	-	-	1.09	0.11	-	-	-	0.92	-	-	0.25	-	-	-	-
Isoamyl propionate	-	-	-	-	0.14	-	0.10	-	-	-	-	-	-	0.12	-	-	-	-	-	-
Metil heptanoate	-	-	-	-	-	-	-	0.11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Etil heptanoate	-	-	-	-	-	-	-	0.13	-	-	-	-	0.08	-	-	-	-	-	0.03	-
Metil octanoate	-	-	-	-	-	-	-	0.71	-	-	-	-	0.63	-	-	-	-	-	-	-
2-Butenoic asit, metil ester	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.16	-	-	-	-	-	-	-	-

Butil N-hexanoate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	-	-	-	-	-	-	-
Butanoic asit, 3-metil-, metil ester	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.28	0.36	-	0.22	-	0.22	-
2-Fenil etil propiyonat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	-	-	0.04	-	0.03	-
Etil decanoate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.14	-	-	-	-	-
Dihydro-eugenol asetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	-	-	-	-	0.08	-
Citronellyl formate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	-	0.02	-	-
Etil butyrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.72	-	-
Etil tetradecanoate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	-	-
Dihydro citronellol asetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05
Aminler																				
2-Propanamine	-	-	1.46	-	-	1.26	1.80	-	-	-	-	1.44	0.69	-	-	-	0.52	1.05	-	1.01
2-Anthracenamine	-	-	0.06	0.05	-	-	-	-	-	0.07	-	-	0.03	-	-	-	-	-	-	-
Oxime-, methoxy-fenil-	0.40	0.25	0.15	0.12	0.10	0.09	0.08	-	0.40	0.18	0.64	0.10	0.08	0.16	0.17	0.09	0.16	0.52	0.08	0.08
1,2-Propanediamine	-	-	-	-	1.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.32	-
1,4-Butanediamine	-	-	-	-	-	0.06	-	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-metil-3,3-D2-Aziridine	-	-	-	-	-	-	-	0.03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Butanamine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Metilamino-propylamine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.45	-	-	-	-	-
Ketonlar																				
2-Pentanone	-	-	-	-	-	0.22	-	3.90	15.26	-	0.55	11.70	10.82	4.87	1.09	3.73	-	0.26	-	0.23
2- Heptanone	-	-	0.22	0.39	-	0.36	-	5.68	0.17	-	1.24	-	3.08	0.35	1.91	1.03	0.25	0.36	0.78	-
2- Oktanon	1.24	0.37	3.77	5.19	-	6.59	0.74	0.85	6.45	-	5.82	0.67	2.11	4.48	20.86	16.01	2.15	3.10	14.93	0.98
6-Metil-5-Hepten-2-one	-	-	0.11	0.06	-	1.61	-	-	0.05	0.21	0.06	0.08	11.68	0.06	0.17	0.12	0.11	0.42	0.12	0.07
2- Nonanone	-	-	0.08	0.10	-	0.15	1.45	-	0.34	-	0.08	-	-	0.21	0.70	0.42	0.11	-	0.63	0.14
Etil Hydroquinone	0.16	-	-	0.08	-	0.11	-	-	-	-	-	0.07	-	-	-	-	-	-	0.10	-
2-Acetyl-Furan	-	-	-	0.09	-	-	-	-	-	-	-	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-
z-β-Damascenone	-	-	-	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	-	-	0.04	-	-
2-Butanone, 3-hidroxy	-	-	-	-	0.69	-	-	-	-	0.08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Butanone	-	-	-	-	-	-	-	14.26	31.90	-	-	31.29	13.82	-	-	29.21	-	-	-	-
Aseton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.81	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cis-Pinocamphone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	-	-	-	-	-	-	-
Acetophenone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	-	-	-	-	-	-	-
2-Thiazolidinethione	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	-	-	-	-	-	-	-
7-Octen-2-one	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.13	-	-	-	-	-
4-Metil-2-pentanone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.42	-	-	-	-
3- Oktanon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.31	-	-	-	-
6-Octen-2-one, (Z)-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.10	-	-	-	-
2-Decanone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04	-	-	0.07	-
Neryl aseton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	-	-
2-Hexanone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.25	-
Terpenler																				
o- Cymene	-	0.13	0.07	-	0.07	0.06	-	-	-	-	-	0.11	0.04	0.05	0.13	0.07	-	-	0.07	0.11
Camphene	-	0.07	-	0.08	-	0.04	0.10	0.04	-	0.16	-	-	0.04	0.06	-	-	-	-	-	-
p-Cymene	-	-	-	0.14	-	-	-	-	-	0.11	0.12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Camphor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-

<i>p</i> -Mentha-1(7),8-diene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05	-	-	0.09	-	-	-	-
Dihydro citronellol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.13
Asitler																					
Asetik asit	3.84	4.10	3.81	1.87	1.54	1.62	3.57	1.03	1.16	3.35	2.50	1.19	0.66	0.64	5.13	0.81	1.17	0.88	0.88	3.31	
Isobutirik asit	0.14	-	0.10	-	-	-	-	-	-	1.24	-	-	0.31	-	-	-	-	-	-	-	
Butirik asit	21.11	7.92	2.24	-	2.00	2.20	3.92	7.66	10.69	13.22	7.91	5.50	6.18	2.54	-	3.19	2.10	-	-	-	
İsovalerik asit	24.91	22.39	18.55	13.43	11.42	10.79	17.70	11.34	6.90	29.22	11.17	14.34	8.20	10.48	12.51	11.10	15.66	13.39	11.15	13.41	
Phenol	0.09	0.05	-	0.03	-	-	-	0.18	0.08	0.17	-	0.05	0.15	0.03	0.09	0.17	0.04	-	0.03	0.03	
Cresol<META->	0.19	-	-	0.18	-	0.03	-	0.06	0.03	0.05	0.10	0.04	0.04	0.02	0.12	0.09	0.03	-	-	-	
Propanoic asit, 2-metil	-	0.09	-	0.06	0.07	-	-	-	0.14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.11
Octanoic asit	-	0.09	0.08	-	0.10	0.03	-	2.55	-	0.06	-	-	1.08	-	0.05	-	0.05	-	-	-	
Nonanoic asit	-	0.55	0.40	0.08	0.15	0.14	0.14	0.20	0.40	0.87	0.11	-	0.12	0.07	0.15	0.07	0.12	0.05	0.16	-	
Phenol, 4-etil	-	0.21	-	-	0.20	0.21	-	0.10	0.37	0.26	0.04	0.26	0.08	0.19	-	0.44	0.09	-	0.27	-	
Heptanoic asit	-	-	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Valeric asit	-	-	-	-	0.06	-	-	3.64	0.53	-	-	0.12	2.32	-	-	0.28	-	-	-	-	
2-Methoxy-4-metilphenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Hexanoic asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05	-	-	-	-	-	
2,6-Dimetil Phenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.10
Alkenler																					
1- Decene	-	-	0.13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	0.15	0.13	-	-
3-Etil-2-metil-1-heptene	-	-	-	-	-	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.17	-	-
Alkanlar																					
1,2-Dichlorooctane	-	-	-	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3-(3'-Trimethylsiloxypopyl)- 1,1,2-tris cyclopropane	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	0.06	-	0.06	-	0.08	-	-	-	-	-	-	
Propane, 2-ethoxy-	-	-	-	-	-	-	0.13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Silane, dimethoxydimethyl-	-	-	0.18	-	-	0.06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05	-
Benzenler																					
Styrene	-	-	-	0.10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.13	-	-	-	-	-	-	
1,4-Dimethoxy Benzene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.09	-	-	
Alkoller																					
Etil alkol	9.77	11.89	10.89	7.53	9.31	5.53	8.10	-	1.05	7.86	7.79	4.30	0.78	2.47	6.08	2.67	8.39	9.72	5.01	4.46	
Isobutil alkol	-	0.33	0.32	0.24	0.42	0.75	0.42	-	-	0.14	0.36	0.14	-	0.18	0.30	-	0.34	0.14	0.36	0.38	
Butil alkol	1.92	0.47	-	-	-	-	1.13	0.31	-	1.08	0.68	2.94	0.29	0.92	-	0.14	0.36	-	-	-	
3-metil-3-buten-1-ol	0.11	0.15	0.18	0.12	0.11	0.10	0.22	0.04	-	0.33	0.08	0.11	0.02	0.06	0.07	0.06	0.13	0.19	0.07	-	
3z- Hexenol	0.15	0.23	0.33	0.31	0.19	0.16	0.50	0.06	-	0.50	0.12	0.45	0.04	0.20	0.27	0.24	0.43	0.92	0.22	0.18	
2-Oktanol	3.07	0.47	7.02	22.71	0.24	32.39	2.40	9.54	-	-	7.83	0.21	8.98	0.95	13.27	5.11	1.93	3.38	6.58	0.80	
1- Octen-3-ol	0.28	0.33	0.46	0.51	0.36	0.28	-	0.10	0.16	-	-	-	-	0.14	-	0.28	0.34	0.35	0.23	0.19	
n- Heptanol		0.10	0.31	0.18	0.18	0.15	0.15	0.04	-	0.10	0.12	0.10	0.02	0.09	0.24	0.13	0.40	0.50	0.37	-	
2-Etil-1-hexanol	0.19	0.18	0.23	0.16	0.10	0.16	0.09	0.11	0.19	-	0.19	0.25	0.10	0.06	0.18	0.06	0.11	0.07	0.09	0.42	
Amyl alkol	0.17	-	-	-	-	-	0.22	0.09	-	0.14	0.08	0.17	0.11	0.09	-	-	0.19	0.24	-	-	
2-Pentanol	0.28	-	-	-	-	0.71	-	1.31	1.89	-	-	1.29	2.25	1.24	-	0.42	-	-	-	-	
n-Hexanol	0.18	0.15	0.30	0.32	0.17	0.23	0.40	0.12	0.05	0.34	0.24	0.81	0.18	0.34	0.56	0.27	1.27	1.93	0.27	0.27	
6-Hepten-1-ol, 2-metil-	-	-	0.05	-	-	-	0.05	0.04	-	-	-	-	0.07	0.03	-	-	-	-	-	-	
Linalool	-	0.06	0.25	0.06	0.05	0.06	0.14	0.04	0.05	0.12	0.07	0.09	0.02	0.03	0.09	0.07	0.06	0.06	0.05	2.00	

n-Oktanol	-	0.11	0.53	-	0.30	0.31	1.56	-	0.02	-	0.16	0.10	0.04	-	-	0.07	0.47	0.41	0.29	0.30
Terpinen-4-ol	-	-	0.05	0.04	-	0.03	-	-	-	0.08	0.04	0.05	0.04	-	-	-	-	0.03	-	0.07
n-Nonanol	0.73	1.28	6.36	1.21	2.27	2.67	-	0.20	1.39	2.98	1.43	0.89	0.20	0.70	2.88	0.77	2.84	1.44	2.16	4.38
3z- Nonen-1-ol	0.12	0.37	0.54	0.31	0.24	0.30	0.08	0.09	0.12	0.43	0.34	0.29	0.20	0.23	0.83	0.25	0.79	0.67	0.48	0.32
α-Terpineol	0.04	-	0.10	0.04	0.03	0.04	0.05	-	-	0.19	-	0.05	0.05	0.03	-	0.09	0.04	0.02	0.03	-
6-Metil-Heptan-2-ol	0.33	-	-	0.64	-	-	-	-	-	-	0.20	-	-	-	-	-	-	0.25	0.22	0.24
Myrtenol	0.07	-	0.09	0.08	0.04	0.04	-	-	-	0.12	0.06	-	-	-	0.08	-	-	0.06	-	-
Benzyl Alkol	0.05	0.05	0.07	0.03	0.10	0.04	0.07	0.04	0.03	0.12	0.03	0.05	0.05	0.03	0.04	0.08	0.04	0.07	0.03	-
(O-D)ethenol	-	0.22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Oktanol	-	0.07	0.19	-	-	-	-	0.03	-	-	-	-	-	-	0.14	0.13	-	0.10	-	-
Fenil Etil Alkol	-	0.09	0.14	0.26	0.17	0.09	0.20	-	-	0.05	0.10	0.05	0.01	0.08	0.12	0.03	0.24	0.11	0.15	0.10
1,5-Pentandiol, monobenzoate	-	-	0.09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(s)-3-etil-4-methylpentanol-1	-	-	-	0.05	-	-	0.09	0.04	-	0.09	0.03	-	0.04	0.04	-	0.07	0.05	-	0.05	0.05
1,2-Decandiol	-	-	-	0.14	0.24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.15
2-Hexanol	0.08	-	-	0.17	-	0.21	-	0.19	-	-	-	0.08	-	-	0.11	-	-	0.05	-	-
3-Metil-2- buten-1-ol	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	0.14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Butanol	-	-	-	-	-	1.82	-	2.21	2.90	-	-	10.30	3.46	4.42	-	6.32	-	-	-	-
cis-Oct-5-en-2-ol	-	-	-	-	-	0.13	-	-	-	-	-	-	-	0.20	-	-	-	-	-	-
2-Oktanol, asetat	-	-	-	-	-	0.07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
methanol-(4-Metil-cyclohex-3-enyl)-	-	-	-	-	-	-	0.11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isopentyl Alkol	-	-	-	-	-	-	-	-	0.37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2-Butandiol	-	-	-	-	-	-	-	-	0.22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
n-Decanol	-	-	-	-	-	-	-	-	0.13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.12	0.20
1-Dodecyn-4-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Hexen-1-ol (trans)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	-	0.07	-	-
1-Propanol, 2-metil-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.12	-	-	-	-
2-Heptanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.07	-	-	-	-	-	-
2,3- Butandiol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.09	-	-	-	-	-
6-Metil-hept-5-en-2-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05	-	-	-
Lauryl alkol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	-
Dec-9-en-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	-	-
n-Hexadecanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04	-	0.09
n- Undecanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03
1-Pentanol, 3-metil-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Thiazole, 5-metil-	-	-	-	-	-	0.10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eterler																				
Etil Ether	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.74	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metil-d3 1-Dideuterio-2-propenyl Ether	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.08	-	-	0.14	-	0.06
Yağ asidi																				
Dodecanoic asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.28
Diğer																				
Benzothiazole	0.60	0.69	0.42	0.29	0.30	0.35	0.34	0.23	0.70	0.55	0.25	0.35	0.19	0.25	0.25	0.25	0.36	0.29	0.25	0.36
4-Metil-Thiazole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.98	-	-	-	-

F1-F10: Taze olarak temin edilip laboratuvar şartlarında geleneksel fermentasyona bırakılan gılaburu örnekleri, F11-F20: Piyasadan fermente edilmiş olarak toplanan gılaburu örnekleri, - : belirlenemedi.

4.1.4. LAB 'nin Genotipik Olarak Tanımlanması

Bu proje kapsamında toplam 332 farklı izolat elde edilmiş olup tüm isolatların Gram (+) ve katalaz (-) oldukları belirlenmiştir. Tanımlanan LAB izolat sayısı, izolat yüzdesi ve hangi gılaburu örneklerinde bulunduğu Tablo 4.12 ve 4.13 'te verilmiştir. Bunun yanında Tablo 4.14 'de ise gılaburu örneklerinden tanımlanan LAB türleri verilmiştir. Bu tablolardan görüldüğü üzere toplam 332 LAB izolatının 173'ünün *Lb. plantarum* (%52.1) olduğu, bunu ise *Lb. casei* (52 izolat-%15.7) ve *Lb. brevis* (24 izolat-%7.2) izlediği gözlenmiştir. En az izole edilen LAB ise *Lb. buchneri*, *Lb. parabuchneri*, *Lb. pantheris*, *Leu. pseudomesenteroides* ve *Lb. harbinensis* olduğu tespit edilmiştir. Bunların izolat sayılarının sırasıyla 5, 4, 3, 2 ve 1 olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *Lb. plantarum*'un 15 farklı gılaburu örneğinde bulunduğu belirlenirken *Lb. casei*'nin 5 örnekte, *Lb. brevis* ve *Lb. hordei*'nin 3 örnekte ve *Lb. pantheris*'in ise 2 örnekte bulunduğu tespit edilmiştir. Diğer LAB türleri ise sadece 1 gılaburu örneğinde olduğu saptanmıştır. Sonuçta 12 farklı LAB (*Lactobacillus* ssp. ve *Leuconostoc* ssp.) olduğu ve bunlar içerisinde çoğunluğunun *Lactobacillus* türlerinin olduğu saptanmıştır.

Tablo 4. 12. Tanımlama sonunda elde edilen izolat sayısı, oranları ve bulunduğu örnek sayısı

LAB	İzolat sayısı	İzolat yüzdesi	Bulunduğu örnek sayısı
<i>Lb. plantarum</i>	173	52.1	15
<i>Lb. casei</i>	52	15.7	6
<i>Lb. brevis</i>	24	7.2	3
<i>Leu. mesenteroides</i>	20	6.0	1
<i>Lb. hordei</i>	19	5.7	3
<i>Lb. paraplantarum</i>	16	4.8	1
<i>Lb. coryniformis</i>	13	3.9	1
<i>Lb. buchneri</i>	5	1.5	1
<i>Lb. parabuchneri</i>	4	1.2	1
<i>Lb. pantheris</i>	3	0.9	2
<i>Leu. pseudomesenteroides</i>	2	0.6	1
<i>Lb. harbinensis</i>	1	0.3	1

Tablo 4. 13. Gilaburu örneklerinde tanımlanan LAB izolatları ve sayıları

Gilaburu Örnekleri	Örnekteki Toplam İzolat	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. casei</i>	<i>Lb. brevis</i>	<i>Leu. mesenteroides</i>	<i>Lb. hordei</i>	<i>Lb. paraplantarum</i>	<i>Lb. coryniformis</i>	<i>Lb. buchneri</i>	<i>Lb. parabuchneri</i>	<i>Lb. pantheris</i>	<i>Leu. pseudomesenteroides</i>	<i>Lb. harbinensis</i>
G1	16	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G2	16	-	-	-	-	-	16	-	-	-	-	-	-
G3	20	-	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-
G4	13	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-	-
G5	16	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G6	14	11	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G7	16	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
G8	15	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G9	16	15	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G10	16	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G11	16	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G12	14	7	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G13	16	-	-	-	-	16	-	-	-	-	-	-	-
G14	18	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G15	18	4	-	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G16	19	10	1	-	-	2	-	-	-	4	2	-	-
G17	18	2	9	-	-	-	-	-	5	-	1	-	1
G18	16	7	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G19	19	18	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
G20	20	4	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam	332	173	52	24	20	19	16	13	5	4	3	2	1

Tablo 4. 14.Gilaburu örneklerinden tanımlanan LAB türleri

İzolat No	LAB izolatları	İzolat No	LAB izolatları
G1a	<i>Lb. casei</i>	G11i	<i>Lb. plantarum</i>
G1b	<i>Lb. casei</i>	G11j	<i>Lb. plantarum</i>
G1c	<i>Lb. casei</i>	G11k	<i>Lb. plantarum</i>
G1d	<i>Lb. casei</i>	G11L	<i>Lb. plantarum</i>
G1e	<i>Lb. casei</i>	G11m	<i>Lb. plantarum</i>
G1f	<i>Lb. casei</i>	G11n	<i>Lb. plantarum</i>
G1g	<i>Lb. casei</i>	G11o	<i>Lb. plantarum</i>
G1h	<i>Lb. casei</i>	G11p	<i>Lb. plantarum</i>
G1i	<i>Lb. casei</i>	G12a	<i>Lb. plantarum</i>
G1j	<i>Lb. casei</i>	G12b	<i>Lb. plantarum</i>
G1k	<i>Lb. casei</i>	G12c	<i>Lb. plantarum</i>
G1L	<i>Lb. casei</i>	G12d	<i>Lb. plantarum</i>
G1m	<i>Lb. casei</i>	G12e	<i>Lb. plantarum</i>
G1n	<i>Lb. casei</i>	G12f	<i>Lb. brevis</i>
G1o	<i>Lb. casei</i>	G12g	<i>Lb. brevis</i>
G1p	<i>Lb. casei</i>	G12h	<i>Lb. plantarum</i>
G2a	<i>Lb. paraplantarum</i>	G12i	<i>Lb. brevis</i>
G2b	<i>Lb. paraplantarum</i>	G12j	<i>Lb. plantarum</i>
G2c	<i>Lb. paraplantarum</i>	G12k	<i>Lb. brevis</i>
G2d	<i>Lb. paraplantarum</i>	G12L	<i>Lb. brevis</i>
G2e	<i>Lb. paraplantarum</i>	G12m	<i>Lb. brevis</i>
G2f	<i>Lb. paraplantarum</i>	G12n	<i>Lb. brevis</i>
G2g	<i>Lb. paraplantarum</i>	G13a	<i>Lb. hordei</i>
G2h	<i>Lb. paraplantarum</i>	G13b	<i>Lb. hordei</i>
G2i	<i>Lb. paraplantarum</i>	G13c	<i>Lb. hordei</i>
G2j	<i>Lb. paraplantarum</i>	G13d	<i>Lb. hordei</i>
G2k	<i>Lb. paraplantarum</i>	G13e	<i>Lb. hordei</i>
G2L	<i>Lb. paraplantarum</i>	G13f	<i>Lb. hordei</i>
G2m	<i>Lb. paraplantarum</i>	G13g	<i>Lb. hordei</i>
G2n	<i>Lb. paraplantarum</i>	G13h	<i>Lb. hordei</i>
G2o	<i>Lb. paraplantarum</i>	G13i	<i>Lb. hordei</i>
G2p	<i>Lb. paraplantarum</i>	G13j	<i>Lb. hordei</i>
G3a	<i>Leu. mesenteroides</i>	G13k	<i>Lb. hordei</i>
G3b	<i>Leu. mesenteroides</i>	G13L	<i>Lb. hordei</i>
G3c	<i>Leu. mesenteroides</i>	G13m	<i>Lb. hordei</i>
G3d	<i>Leu. mesenteroides</i>	G13n	<i>Lb. hordei</i>
G3e	<i>Leu. mesenteroides</i>	G13o	<i>Lb. hordei</i>
G3f	<i>Leu. mesenteroides</i>	G13p	<i>Lb. hordei</i>
G3g	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14a	<i>Lb. plantarum</i>
G3h	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14b	<i>Lb. plantarum</i>
G3i	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14c	<i>Lb. plantarum</i>
G3j	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14d	<i>Lb. plantarum</i>
G3k	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14e	<i>Lb. plantarum</i>
G3L	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14f	<i>Lb. plantarum</i>
G3m	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14g	<i>Lb. plantarum</i>

G3n	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14h	<i>Lb. plantarum</i>
G3o	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14i	<i>Lb. plantarum</i>
G3p	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14j	<i>Lb. plantarum</i>
G3r	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14k	<i>Lb. plantarum</i>
G3s	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14L	<i>Lb. plantarum</i>
G3t	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14m	<i>Lb. plantarum</i>
G3u	<i>Leu. mesenteroides</i>	G14n	<i>Lb. plantarum</i>
G4a	<i>Lb. coryniformis</i>	G14o	<i>Lb. plantarum</i>
G4b	<i>Lb. coryniformis</i>	G14p	<i>Lb. plantarum</i>
G4c	<i>Lb. coryniformis</i>	G14r	<i>Lb. plantarum</i>
G4d	<i>Lb. coryniformis</i>	G14s	<i>Lb. plantarum</i>
G4e	<i>Lb. coryniformis</i>	G15a	<i>Lb. brevis</i>
G4f	<i>Lb. coryniformis</i>	G15b	<i>Lb. plantarum</i>
G4g	<i>Lb. coryniformis</i>	G15c	<i>Lb. brevis</i>
G4h	<i>Lb. coryniformis</i>	G15d	<i>Lb. brevis</i>
G4i	<i>Lb. coryniformis</i>	G15e	<i>Lb. brevis</i>
G4j	<i>Lb. coryniformis</i>	G15f	<i>Lb. brevis</i>
G4k	<i>Lb. coryniformis</i>	G15g	<i>Lb. brevis</i>
G4L	<i>Lb. coryniformis</i>	G15h	<i>Lb. brevis</i>
G4m	<i>Lb. coryniformis</i>	G15i	<i>Lb. brevis</i>
G5a	<i>Lb. plantarum</i>	G15j	<i>Lb. brevis</i>
G5b	<i>Lb. plantarum</i>	G15k	<i>Lb. brevis</i>
G5c	<i>Lb. plantarum</i>	G15L	<i>Lb. plantarum</i>
G5d	<i>Lb. plantarum</i>	G15m	<i>Lb. brevis</i>
G5e	<i>Lb. plantarum</i>	G15n	<i>Lb. brevis</i>
G5f	<i>Lb. plantarum</i>	G15o	<i>Lb. plantarum</i>
G5g	<i>Lb. plantarum</i>	G15p	<i>Lb. brevis</i>
G5h	<i>Lb. plantarum</i>	G15r	<i>Lb. brevis</i>
G5i	<i>Lb. plantarum</i>	G15s	<i>Lb. plantarum</i>
G5j	<i>Lb. plantarum</i>	G16a	<i>Lb. plantarum</i>
G5k	<i>Lb. plantarum</i>	G16d	<i>Lb. plantarum</i>
G5L	<i>Lb. plantarum</i>	G16e	<i>Lb. plantarum</i>
G5m	<i>Lb. plantarum</i>	G16f	<i>Lb. plantarum</i>
G5n	<i>Lb. plantarum</i>	G16g	<i>Lb. plantarum</i>
G5o	<i>Lb. plantarum</i>	G16h	<i>Lb. hordei</i>
G5p	<i>Lb. plantarum</i>	G16i	<i>Lb. plantarum</i>
G6a	<i>Lb. plantarum</i>	G16j	<i>Lb. hordei</i>
G6b	<i>Lb. plantarum</i>	G16k	<i>Lb. plantarum</i>
G6c	<i>Lb. plantarum</i>	G16L	<i>Lb. parabuchneri</i>
G6d	<i>Lb. brevis</i>	G16m	<i>Lb. plantarum</i>
G6e	<i>Lb. plantarum</i>	G16n	<i>Lb. plantarum</i>
G6f	<i>Lb. plantarum</i>	G16o	<i>Lb. plantarum</i>
G6g	<i>Lb. plantarum</i>	G16p	<i>Lb. parabuchneri</i>
G6h	<i>Lb. plantarum</i>	G16r	<i>Lb. casei</i>
G6i	<i>Lb. plantarum</i>	G16s	<i>Lb. parabuchneri</i>
G6j	<i>Lb. plantarum</i>	G16t	<i>Lb. pantheris</i>
G6k	<i>Lb. plantarum</i>	G16u	<i>Lb. pantheris</i>

G6L	<i>Lb. plantarum</i>	G16v	<i>Lb. parabuchneri</i>
G6m	<i>Lb. brevis</i>	G17a	<i>Lb. casei</i>
G6n	<i>Lb. brevis</i>	G17b	<i>Lb. buchneri</i>
G7a	<i>Lb. plantarum</i>	G17c	<i>Lb. plantarum</i>
G7b	<i>Lb. plantarum</i>	G17d	<i>Lb. buchneri</i>
G7c	<i>Lb. plantarum</i>	G17e	<i>Lb. buchneri</i>
G7d	<i>Lb. plantarum</i>	G17g	<i>Lb. casei</i>
G7e	<i>Lb. plantarum</i>	G17h	<i>Lb. harbinensis</i>
G7f	<i>Leu. pseudomesenteroides</i>	G17i	<i>Lb. casei</i>
G7g	<i>Lb. plantarum</i>	G17j	<i>Lb. buchneri</i>
G7h	<i>Leu. pseudomesenteroides</i>	G17L	<i>Lb. casei</i>
G7i	<i>Lb. plantarum</i>	G17m	<i>Lb. pantheris</i>
G7j	<i>Lb. plantarum</i>	G17n	<i>Lb. casei</i>
G7k	<i>Lb. plantarum</i>	G17o	<i>Lb. plantarum</i>
G7L	<i>Lb. plantarum</i>	G17p	<i>Lb. casei</i>
G7m	<i>Lb. plantarum</i>	G17r	<i>Lb. casei</i>
G7n	<i>Lb. plantarum</i>	G17s	<i>Lb. casei</i>
G7o	<i>Lb. plantarum</i>	G17t	<i>Lb. buchneri</i>
G7p	<i>Lb. plantarum</i>	G17v	<i>Lb. casei</i>
G8a	<i>Lb. plantarum</i>	G18a	<i>Lb. plantarum</i>
G8b	<i>Lb. plantarum</i>	G18b	<i>Lb. casei</i>
G8c	<i>Lb. plantarum</i>	G18c	<i>Lb. casei</i>
G8d	<i>Lb. plantarum</i>	G18d	<i>Lb. casei</i>
G8e	<i>Lb. plantarum</i>	G18e	<i>Lb. casei</i>
G8f	<i>Lb. plantarum</i>	G18f	<i>Lb. plantarum</i>
G8	<i>Lb. plantarum</i>	G18g	<i>Lb. casei</i>
G8h	<i>Lb. plantarum</i>	G18h	<i>Lb. plantarum</i>
G8i	<i>Lb. plantarum</i>	G18i	<i>Lb. casei</i>
G8j	<i>Lb. plantarum</i>	G18j	<i>Lb. plantarum</i>
G8k	<i>Lb. plantarum</i>	G18k	<i>Lb. casei</i>
G8L	<i>Lb. plantarum</i>	G18L	<i>Lb. plantarum</i>
G8m	<i>Lb. plantarum</i>	G18m	<i>Lb. plantarum</i>
G8n	<i>Lb. plantarum</i>	G18n	<i>Lb. casei</i>
G8o	<i>Lb. plantarum</i>	G18o	<i>Lb. casei</i>
G9a	<i>Lb. plantarum</i>	G18p	<i>Lb. plantarum</i>
G9b	<i>Lb. plantarum</i>	G19a	<i>Lb. plantarum</i>
G9c	<i>Lb. plantarum</i>	G19b	<i>Lb. plantarum</i>
G9d	<i>Lb. plantarum</i>	G19c	<i>Lb. plantarum</i>
G9e	<i>Lb. plantarum</i>	G19d	<i>Lb. plantarum</i>
G9f	<i>Lb. casei</i>	G19e	<i>Lb. plantarum</i>
G9g	<i>Lb. plantarum</i>	G19f	<i>Lb. plantarum</i>
G9h	<i>Lb. plantarum</i>	G19g	<i>Lb. plantarum</i>
G9i	<i>Lb. plantarum</i>	G19h	<i>Lb. plantarum</i>
G9j	<i>Lb. plantarum</i>	G19i	<i>Lb. plantarum</i>
G9k	<i>Lb. plantarum</i>	G19j	<i>Lb. plantarum</i>
G9L	<i>Lb. plantarum</i>	G19k	<i>Lb. plantarum</i>
G9m	<i>Lb. plantarum</i>	G19L	<i>Lb. plantarum</i>

G9n	<i>Lb. plantarum</i>	G19m	<i>Lb. plantarum</i>
G9o	<i>Lb. plantarum</i>	G19n	<i>Lb. plantarum</i>
G9p	<i>Lb. plantarum</i>	G19o	<i>Lb. plantarum</i>
G10a	<i>Lb. plantarum</i>	G19p	<i>Lb. hordei</i>
G10b	<i>Lb. plantarum</i>	G19r	<i>Lb. plantarum</i>
G10c	<i>Lb. plantarum</i>	G19s	<i>Lb. plantarum</i>
G10d	<i>Lb. plantarum</i>	G19t	<i>Lb. plantarum</i>
G10e	<i>Lb. plantarum</i>	G20a	<i>Lb. casei</i>
G10f	<i>Lb. plantarum</i>	G20b	<i>Lb. casei</i>
G10g	<i>Lb. plantarum</i>	G20c	<i>Lb. plantarum</i>
G10h	<i>Lb. plantarum</i>	G20d	<i>Lb. casei</i>
G10i	<i>Lb. plantarum</i>	G20e	<i>Lb. casei</i>
G10j	<i>Lb. plantarum</i>	G20f	<i>Lb. casei</i>
G10k	<i>Lb. plantarum</i>	G20g	<i>Lb. casei</i>
G10L	<i>Lb. plantarum</i>	G20h	<i>Lb. casei</i>
G10m	<i>Lb. plantarum</i>	G20i	<i>Lb. casei</i>
G10n	<i>Lb. plantarum</i>	G20j	<i>Lb. casei</i>
G10o	<i>Lb. plantarum</i>	G20k	<i>Lb. casei</i>
G10p	<i>Lb. plantarum</i>	G20L	<i>Lb. casei</i>
G11a	<i>Lb. plantarum</i>	G20m	<i>Lb. casei</i>
G11b	<i>Lb. plantarum</i>	G20n	<i>Lb. plantarum</i>
G11c	<i>Lb. plantarum</i>	G20o	<i>Lb. casei</i>
G11d	<i>Lb. plantarum</i>	G20p	<i>Lb. casei</i>
G11e	<i>Lb. plantarum</i>	G20r	<i>Lb. casei</i>
G11f	<i>Lb. plantarum</i>	G20s	<i>Lb. casei</i>
G11g	<i>Lb. plantarum</i>	G20t	<i>Lb. plantarum</i>
G11h	<i>Lb. plantarum</i>	G20u	<i>Lb. plantarum</i>

4.1.5. Gilaburu Örneklerinden İzole Edilen ve Tanımlanan LAB'nin Probiyotik ve Fonksiyonel Özellikleri

İzole edilen bazı LAB; probiyotik ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla seçilmiştir. Bu amaçla öncelikle her bir gilaburu örneğinden 2 izolat olmak üzere, farklı gilaburu örneklerinin yüksek dilüsyonlardan izole edilen ve tanımlanan 40 adet LAB seçilmiştir. Seçilen LAB izolat no'ları ve isimleri Tablo 4.15'te verilmiştir. Bu izolatlardan 20 tanesi *Lb. plantarum*, 7'si *Lb. casei*, 3'ü *Lb. brevis*, 2'ser adet *Lb. paraplantarum*, *Leu. mesenteroides*, *Lb. coryniformis* ve *Lb. hordei*, 1'er adet de *Lb. buchneri* ve *Leu. pseudomesenteroides* olarak seçilmiştir.

Bu bakteriler ve bazı biyokimyasal özellikleri Tablo 4.16'te gösterilmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere glukozdan gaz üretimi, arjinden amonyak üretimi ve farklı sıcaklıklarda gelişme özellikleri belirlenmiştir.

İzolatların glukozdan gaz üretimi testi 40 izolattan sadece 7 'sinde gözlemlenirken, *Lb. hordei* 'nin 15°C ve 45°C 'nin herikisinde de gelişebilmesinin haricinde kalan suşların tamamen 15°C 'de gelişebilmelerine rağmen 45°C 'de gelişemedikleri tespit edilmiştir.

Tablo 4. 15. Probiyotik ve fonksiyonel özellikleri test edilen LAB

İzolat No	LAB izolatları	İzolat No	LAB izolatları
G1a	<i>Lb. casei</i>	G11a	<i>Lb. plantarum</i>
G1b	<i>Lb. casei</i>	G11d	<i>Lb. plantarum</i>
G2a	<i>Lb. paraplantarum</i>	G12a	<i>Lb. plantarum</i>
G2b	<i>Lb. paraplantarum</i>	G12f	<i>Lb. brevis</i>
G3a	<i>Leu. mesenteroides</i>	G13a	<i>Lb. hordei</i>
G3d	<i>Leu. mesenteroides</i>	G13f	<i>Lb. hordei</i>
G4a	<i>Lb. coryniformis</i>	G14a	<i>Lb. plantarum</i>
G4d	<i>Lb. coryniformis</i>	G14f	<i>Lb. plantarum</i>
G5a	<i>Lb. plantarum</i>	G15a	<i>Lb. brevis</i>
G5d	<i>Lb. plantarum</i>	G15b	<i>Lb. plantarum</i>
G6a	<i>Lb. plantarum</i>	G16a	<i>Lb. plantarum</i>
G6d	<i>Lb. brevis</i>	G16r	<i>Lb. casei</i>
G7a	<i>Lb. plantarum</i>	G17a	<i>Lb. casei</i>
G7f	<i>Leu. pseudomesenteroides</i>	G17b	<i>Lb. buchneri</i>
G8a	<i>Lb. plantarum</i>	G18b	<i>Lb. casei</i>
G8c	<i>Lb. plantarum</i>	G18f	<i>Lb. plantarum</i>
G9a	<i>Lb. plantarum</i>	G19a	<i>Lb. plantarum</i>
G9f	<i>Lb. casei</i>	G19e	<i>Lb. plantarum</i>
G10a	<i>Lb. plantarum</i>	G20a	<i>Lb. casei</i>
G10j	<i>Lb. plantarum</i>	G20c	<i>Lb. plantarum</i>

Tablo 4. 16. Probiyotik gilaburu suyu üretimi için seçilen LAB türleri ve bazı biyokimyasal özellikleri

İzolatlar	Glukozdan gaz üretimi	Arjininden Amonyak Üretimi	Farklı sıcaklıklarda gelişme	
			15°C	45°C
G1a	-	-	+	-
G1b	-	-	+	-
G2a	-	-	+	-
G2b	-	-	+	-
G3a	+	-	+	-
G3d	+	-	+	-
G4a	-	-	+	-
G4d	-	-	+	-
G5a	-	-	+	-
G5d	-	-	+	-
G6a	-	-	+	-
G6d	+	+	+	-
G7a	-	-	+	-
G7f	+	-	+	-
G8a	-	-	+	-
G8c	-	-	+	-
G9a	-	-	+	-
G9f	-	-	+	-
G10a	-	-	+	-
G10j	-	-	+	-
G11a	-	-	+	-
G11d	-	-	+	-
G12a	-	-	+	-
G12f	+	+	+	-
G13a	-	-	+	+
G13f	-	-	+	+
G14a	-	-	+	-
G14f	-	-	+	-
G15a	+	+	+	-
G15b	-	-	+	-
G16a	-	-	+	-
G16r	-	-	+	-
G17a	-	-	+	-
G17b	+	+	+	-
G18b	-	-	+	-
G18f	-	-	+	-
G19a	-	-	+	-
G19e	-	-	+	-
G20a	-	-	+	-
G20c	-	-	+	-

Seçilen izolatların hidrojen sülfür üretimi, farklı safra tuzuna ve pH 'ya dayanıklılığı test sonuçları Tablo 4.17’de verilmiştir. Hiçbir izolatın hidrojen sülfür üretmediği tespit edilmiştir. Sonuçlar ilgili tabloda görüldüğü üzere test edilen izolatların hepsi tüm bile tuzu

konsantrasyonlarına karşı dayanıklı olduğu ve bu konsantrasyonlarında gelişebildiği belirlenmiştir. Farklı asitlerde gelişme testi incelendiğinde izolatlardan 2 tanesi hariç diğerleri pH 3.5 değerlerinde gelişme göstermiştir. Yine pH 2.5 değerlerinde ise sadece 5 tanesinde gelişme gözlemlenemezken diğerlerinde ise gelişme olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4. 17. LAB 'nin bazı probiyotik ve teknolojik özellikleri

İzolat No	H ₂ S Üretme	Farklı safra tuzu konsant. gelişme (%)				Farklı pH'da gelişme	
		0.15	0.3	0.6	1	pH 2.5	pH 3.5
G1a	-	+	+	+	+	-	+
G1b	-	+	+	+	+	-	+
G2a	-	+	+	+	+	+	+
G2b	-	+	+	+	+	+	+
G3a	-	+	+	+	+	+	+
G3d	-	+	+	+	+	+	+
G4a	-	+	+	+	+	+	+
G4d	-	+	+	+	+	+	+
G5a	-	+	+	+	+	+	+
G5d	-	+	+	+	+	+	+
G6a	-	+	+	+	+	+	+
G6d	-	+	+	+	+	+	+
G7a	-	+	+	+	+	+	+
G7f	-	+	+	+	+	+	+
G8a	-	+	+	+	+	+	+
G8c	-	+	+	+	+	+	+
G9a	-	+	+	+	+	+	+
G9f	-	+	+	+	+	+	+
G10a	-	+	+	+	+	+	+
G10j	-	+	+	+	+	+	+
G11a	-	+	+	+	+	+	+
G11d	-	+	+	+	+	+	+
G12a	-	+	+	+	+	+	+
G12f	-	+	+	+	+	+	+
G13a	-	+	+	+	+	+	+
G13f	-	+	+	+	+	+	+
G14a	-	+	+	+	+	+	+
G14f	-	+	+	+	+	+	+
G15a	-	+	+	+	+	-	+
G15b	-	+	+	+	+	+	+
G16a	-	+	+	+	+	+	+
G16r	-	+	+	+	+	-	-
G17a	-	+	+	+	+	+	+
G17b	-	+	+	+	+	-	-
G18b	-	+	+	+	+	+	+
G18f	-	+	+	+	+	+	+
G19a	-	+	+	+	+	+	+
G19e	-	+	+	+	+	+	+
G20a	-	+	+	+	+	+	+
G20c	-	+	+	+	+	+	+

+: pozitif, -: negatif

Tablo 4.18 'de LAB asit üretme ve tuz konsantrasyonlarında gelişme özellikleri verilmiştir. Test edilen tüm izolatların asit üretme yeteneğinin olduğu belirlenmiş olup 17b (*Lb. buchneri*) nolu örneğin asit üretme yeteneğinin az olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte test edilen izolatların %2 ve %4 tuz konsantrasyonlarında geliştiği belirlenmiştir.

Tablo 4. 18. LAB 'nin bazı probiyotik ve teknolojik özellikleri

İzolat No	Asit üretme (Süre-pH)				Farklı tuz konsant. gelişme	
	0. saat	6. saat	12. saat	24. saat	%2	%4
G1a	5.64	5.59	5.47	4.08	+	+
G1b	5.64	5.56	5.39	4.04	+	+
G2a	5.64	5.46	4.95	3.86	+	+
G2b	5.64	5.54	5.31	3.96	+	+
G3a	5.64	5.52	5.17	4.40	+	+
G3d	5.64	5.52	5.20	4.41	+	+
G4a	5.64	5.52	5.38	4.14	+	+
G4d	5.64	5.56	5.38	4.21	+	+
G5a	5.64	5.56	5.32	3.86	+	+
G5d	5.64	5.56	5.18	3.83	+	+
G6a	5.64	5.55	5.23	3.91	+	+
G6d	5.64	5.57	5.47	4.14	+	+
G7a	5.64	5.58	5.25	3.86	+	+
G7f	5.64	5.57	5.29	3.84	+	+
G8a	5.64	5.56	5.26	3.84	+	+
G8c	5.64	5.52	5.15	3.84	+	+
G9a	5.64	5.50	5.15	3.85	+	+
G9f	5.64	5.52	5.15	3.82	+	+
G10a	5.64	5.44	4.89	3.79	+	+
G10j	5.64	5.52	5.30	4.21	+	+
G11a	5.64	5.50	5.07	3.82	+	+
G11d	5.64	5.50	5.08	3.81	+	+
G12a	5.64	5.55	4.99	3.84	+	+
G12f	5.64	5.54	5.38	4.93	+	+
G13a	5.64	5.53	5.26	4.11	+	+
G13f	5.64	5.56	5.29	4.13	+	+
G14a	5.64	5.51	5.01	3.84	+	+
G14f	5.64	5.47	4.97	3.82	+	+
G15a	5.64	5.48	5.37	4.90	+	+
G15b	5.64	5.48	5.05	3.80	+	+
G16a	5.64	5.47	5.15	4.08	+	+
G16r	5.64	5.52	5.23	4.11	+	+
G17a	5.64	5.53	5.29	4.04	+	+
G17b	5.64	5.59	5.50	5.24	+	+
G18b	5.64	5.51	5.24	3.92	+	+
G18f	5.64	5.55	5.33	3.83	+	+
G19a	5.64	5.44	4.94	3.91	+	+
G19e	5.64	5.51	5.15	3.81	+	+
G20a	5.64	5.53	5.32	3.95	+	+
G20c	5.64	5.54	5.16	3.80	+	+

+: pozitif, -: negatif

Tablo 4. 19. LAB 'nin antibiyotik duyarlılıkları (zon çapı, mm)

İzolat No	Ampicillin (AMP)	Chloramphenicol (C)	Erythromycin (E)	Kanamycin (K)	Penicillin (P)	Streptomycin (S)	Tetracycline (TE)	Vancomycin (VA)
G1a	14.84±0.66	18.25±1.36	20.63±0.71	-	20.94±0.94	-	27.15±0.83	-
G1b	16.37±0.86	21.30±0.44	18.43±0.11	-	20.49±0.18	-	27.23±1.68	-
G2a	19.30±1.45	21.06±0.27	17.50±0.06	-	21.88±0.23	-	15.77±0.75	-
G2b	20.43±1.00	23.67±1.94	19.57±0.23	-	18.28±1.64	-	18.25±1.08	-
G3a	17.62±0.07	15.89±1.05	17.41±0.48	-	17.02±0.04	-	18.73±0.64	-
G3d	16.61±0.46	18.56±0.49	16.82±0.84	-	17.61±0.69	-	19.37±0.58	-
G4a	17.03±0.52	24.53±2.52	17.91±0.69	-	21.56±1.90	-	24.55±0.42	-
G4d	23.92±0.88	31.08±0.81	20.80±0.43	-	26.87±0.25	-	25.57±0.85	-
G5a	19.78±0.71	17.65±1.01	16.08±0.40	-	19.44±0.98	-	16.30±0.22	-
G5d	18.74±0.41	18.19±0.26	17.69±0.72	-	17.56±1.77	-	15.88±0.43	-
G6a	19.87±0.67	20.63±0.03	17.44±1.07	-	17.88±1.66	-	18.21±1.78	-
G6d	17.26±0.33	22.07±1.15	17.11±0.36	-	17.89±0.95	-	15.95±1.08	-
G7a	19.91±1.00	18.48±0.62	15.66±0.16	-	18.75±0.86	-	13.48±0.45	-
G7f	18.55±0.52	19.14±0.12	16.40±0.23	-	17.92±1.00	-	14.62±0.60	-
G8a	17.80±1.37	17.88±1.05	16.64±0.43	-	15.95±0.39	-	15.34±0.80	-
G8c	21.02±0.21	18.72±0.66	16.87±0.33	-	18.72±1.18	-	16.07±1.03	-
G9a	22.00±1.94	21.24±0.71	16.80±0.42	-	16.49±0.69	-	14.58±0.57	-
G9f	19.60±0.38	19.85±0.59	15.56±0.43	-	18.02±0.47	-	16.38±0.43	-
G10a	21.04±1.57	19.78±0.34	15.72±0.42	-	19.09±0.99	-	15.04±0.12	-
G10j	18.20±0.49	16.50±0.66	14.68±0.66	-	11.22±0.57	-	13.85±0.53	-
G11a	21.28±1.32	18.86±0.27	15.71±0.60	-	21.74±0.78	-	15.90±0.72	-
G11d	21.22±0.62	19.39±0.94	16.14±0.25	-	20.13±1.18	-	13.74±1.01	-
G12a	22.07±0.87	19.17±0.69	16.70±0.43	-	19.11±1.24	-	15.55±0.78	-
G12f	17.88±1.03	23.01±0.64	18.68±0.42	-	15.77±0.28	-	17.16±0.49	-
G13a	24.60±1.45	38.98±0.62	26.44±1.26	-	35.92±0.57	-	35.06±0.92	-
G13f	25.54±1.48	32.14±0.52	24.94±0.22	-	21.50±0.60	-	32.11±1.56	-
G14a	21.92±0.54	19.58±0.76	17.38±0.86	-	19.59±1.97	-	16.27±0.30	-
G14f	23.53±0.07	22.37±0.24	17.36±1.59	-	14.85±0.60	-	19.48±0.84	-
G15a	20.49±1.10	25.48±0.13	20.40±1.42	-	13.04±0.95	-	16.62±0.30	-
G15b	21.97±1.27	19.53±0.37	16.89±0.55	-	18.13±0.67	-	16.01±0.17	-
G16a	21.25±0.44	21.34±0.64	16.81±0.66	-	13.35±0.31	-	14.04±0.13	-
G16r	23.98±1.75	22.56±0.39	16.64±1.27	-	14.09±0.59	-	13.73±1.80	-
G17a	20.88±0.95	26.13±1.60	22.67±0.31	-	19.69±0.05	-	25.55±1.27	-
G17b	25.22±0.11	28.96±0.16	28.34±1.19	-	29.21±1.47	-	20.68±1.51	-
G18b	20.18±0.42	24.20±0.49	21.38±0.03	-	23.29±1.12	-	27.50±1.29	-
G18f	19.61±1.51	22.86±0.38	18.42±2.23	-	19.02±0.13	-	16.26±0.37	-
G19a	21.17±0.98	19.62±0.06	16.58±0.81	-	19.43±0.70	-	15.67±1.03	-
G19e	21.74±0.74	20.67±0.69	18.02±0.54	-	19.25±1.45	-	15.42±0.73	-
G20a	19.55±0.64	21.35±0.44	21.36±0.94	-	20.98±0.22	-	26.97±2.45	-
G20c	19.12±0.87	20.08±1.01	17.93±0.18	-	18.04±1.19	-	17.21±1.21	-

-: Etkisiz

İzolatların antibiyotik duyarlılıkları zon çapları ölçülerek tespit edilmiş olup sonuçları Tablo 4.19 'da verilmiştir. Tablodan görüldüğü üzere tüm izolatlar Kanamycin (K), Streptomycin (S) ve Vancomycin (VA) antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu belirlenmiş ve herhangi bir zon ölçülememiştir. Bununla birlikte test edilen her bir LAB antibiyotiklere karşı göstermiş olduğu dirençte değişiklik göstermiştir. *Lb. hordei*' nin olduğu G13a ve G13f nolu örneklerin test edilen antibiyotiklere karşı direncinin oldukça az olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.20 'de test edilen LAB arjininden NH₃ üretimi, tannaz aktivitesi, H₂O₂ üretimi, bakteriyosin üretimi, laktat izomeri ve hidrofobisite özellikleri verilmiştir. Tablodan da görüldüğü gibi, test edilen izolatlar içerisinde sadece 4 adet izolat arjininden amonyak üretme özelliğinde olup, diğer izolatlar üretmemiştir. Ayrıca uygulanan test yöntemleriyle, izolatların tannaz aktivitesi belirlenememiş ve yine uygulanan test yöntemleriyle izolatların bakteriyosin benzeri bir madde üretimlerinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca 21 adet izolatın 0.008±0.001 ile 0.465±0.007 µg/ml arasında değişen oranlarda hidrojen peroksit (H₂O₂) ürettikleri saptanmıştır. Kalan 19 izolatın ise H₂O₂ üretimleri tespit edilemeyecek düzeydedir. Yine analiz edilen LAB izolatlarının türüne göre değişmek üzere D (-), L (+) veya DL laktat ürettikleri belirlenmiştir. Arjininden amonyak üretimi ve laktat üretim sonuçları literatürlerle uyumludur. Analiz edilen LAB izolatlarının tutunma özellikleri (hidrofobisite) testi sonuçlarına göre, bütün izolatların %00.5±0.0 ile %87.5±1.9 arasında değişmek üzere tutunma özelliğine sahip olduğu saptanmıştır. Tutunma özelliği izolatların probiyotik olma ihtimalini güçlendiren bir analiz olup, gilaburu üretiminde kullanılacak izolatların seçiminde oldukça önemlidir. En yüksek tutunma yeteneğine sahip LAB türlerinin *Lb. brevis* (G6d ve G15a), *Lb. plantarum* (G19a ve G19e) ve *Lb. casei* (G20a) olduğu saptanmıştır. Test edilen *Lb. plantarum* ve *Lb. brevis* suşlarının farklı ve yüksek düzeyde hidrofobisite özelliği göstermekle birlikte *Lb. casei*' nin sadece 1 adet suşu (G20a) yüksek oranda tutunma özelliği göstermiştir.

Test edilen bakteri izolatlarının bazı seçilmiş patojen bakterilere karşı antimikrobiyal özellikleri de Tablo 4.21'de verilmiştir. Tablo 4.21 incelendiğinde, test edilen LAB izolatlarının *B. cereus* ve *L. monocytogenes* 'e karşı oldukça fazla etkili olduğu belirlenmiştir. Buna karşın *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* 'un ise, izolatlara karşı diğer patojen bakterilere göre daha dirençli oldukları tespit edilmiştir. Buna göre *E. coli* 40 izolatın sadece dördüne karşı duyarlıyken, *S. aureus* ise sadece 7 izolata karşı duyarlı bulunmuştur.

Tablo 4. 20. Probiyotik gilaburu suyu üretimi için seçilen LAB türleri ve bazı probiyotik ve teknolojik özellikleri

İzolat	Arjininden NH ₃ Üretme	Tannaz aktivitesi	H ₂ O ₂ Üret. (µg/ml)	Bakteriyosin üretimi	Laktat izomeri	Hidrofobisite (%)
G1a	-	-	-	-	L (+)	14.0±2.8
G1b	-	-	0.022±0.011	-	L (+)	14.1±0.3
G2a	-	-	0.092±0.013	-	DL	27.7±5.2
G2b	-	-	-	-	DL	01.5±0.5
G3a	-	-	-	-	D (-)	34.9±1.8
G3d	-	-	-	-	D (-)	38.4±3.3
G4a	-	-	-	-	DL	15.7±1.7
G4d	-	-	0.028±0.002	-	DL	05.3±1.5
G5a	-	-	0.075±0.002	-	DL	73.3±4.7
G5d	-	-	-	-	DL	70.5±0.2
G6a	-	-	0.044±0.001	-	DL	16.7±1.4
G6d	+	-	0.008±0.001	-	DL	74.6±2.8
G7a	-	-	-	-	DL	39.1±2.3
G7f	-	-	0.100±0.004	-	D (-)	08.6±2.4
G8a	-	-	0.294±0.005	-	DL	00.5±0.0
G8c	-	-	0.354±0.028	-	DL	07.8±1.6
G9a	-	-	-	-	DL	39.8±1.3
G9f	-	-	0.019±0.002	-	L (+)	08.3±0.1
G10a	-	-	-	-	DL	33.3±2.6
G10j	-	-	-	-	DL	27.5±2.9
G11a	-	-	0.384±0.009	-	DL	47.5±2.6
G11d	-	-	0.465±0.007	-	DL	47.4±0.8
G12a	-	-	-	-	DL	46.5±4.1
G12f	+	-	-	-	DL	62.9±0.9
G13a	-	-	0.017±0.002	-	L (+)	05.3±2.1
G13f	-	-	0.049±0.002	-	L (+)	38.8±5.6
G14a	-	-	0.385±0.008	-	DL	19.7±3.1
G14f	-	-	0.085±0.001	-	DL	04.7±1.5
G15a	+	-	-	-	DL	72.9±0.7
G15b	-	-	0.082±0.002	-	DL	66.3±8.8
G16a	-	-	-	-	DL	08.3±2.3
G16r	-	-	-	-	L (+)	17.1±0.3
G17a	-	-	-	-	L (+)	31.6±5.6
G17b	+	-	0.055±0.001	-	DL	13.1±2.6
G18b	-	-	-	-	L (+)	23.4±4.0
G18f	-	-	0.031±0.001	-	DL	15.5±2.2
G19a	-	-	0.096±0.001	-	DL	76.2±6.8
G19e	-	-	-	-	DL	86.0±6.3
G20a	-	-	0.274±0.002	-	L (+)	87.5±1.9
G20c	-	-	-	-	DL	03.7±0.6

+: pozitif, -: negatif

Tablo 4. 21. LAB 'nin Antibakteriyel Aktiviteleri (inhibisyon zonu çapı, mm)

İzolat No	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Y. enterocolitica</i>
G1a	10.68±0.54	-	8.97±0.68	9.42±2.07	8.32±0.18	-	7.36±0.55
G1b	7.17±7.42	-	9.33±2.11	10.53±0.17	8.55±1.12	-	6.98±0.49
G2a	8.81±0.95	8.45±0.66	9.19±0.34	18.24±3.19	9.18±1.06	-	-
G2b	8.57±1.29	8.12±0.37	8.98±0.59	16.87±1.94	10.25±0.82	-	-
G3a	-	-	-	18.47±0.82	-	-	-
G3d	-	-	-	17.30±0.61	-	-	-
G4a	6.73±0.27	-	-	14.11±2.21	8.23±0.47	-	-
G4d	4.96±4.50	-	-	12.30±0.76	9.38±0.41	-	-
G5a	9.57±0.76	8.99±0.51	-	18.50±2.14	10.70±1.51	-	8.33±0.77
G5d	10.45±0.22	-	-	15.42±2.74	7.31±0.65	-	7.90±1.14
G6a	7.52±0.80	-	8.71±0.62	15.87±0.53	-	-	9.52±0.35
G6d	-	-	-	-	-	-	-
G7a	10.96±1.20	-	8.43±0.64	11.08±1.18	8.23±0.66	12.26±1.16	-
G7f	-	-	-	11.98±2.18	-	-	-
G8a	10.14±1.07	-	-	13.30±0.86	-	9.52±1.29	8.10±0.91
G8c	11.99±1.39	-	-	13.63±2.93	-	-	7.93±1.58
G9a	9.05±1.39	-	-	8.31±1.03	-	-	-
G9f	9.17±0.39	-	-	11.47±1.75	-	-	-
G10a	9.42±0.71	-	8.50±0.62	14.95±2.66	-	-	-
G10j	9.32±0.98	-	7.41±0.66	9.84±1.50	-	-	-
G11a	10.26±1.72	-	-	15.32±2.13	-	11.03±1.49	10.62±0.64
G11d	10.85±1.60	-	-	18.42±3.58	-	9.63±1.10	9.62±0.25
G12a	8.33±0.76	9.00±0.59	-	18.03±1.91	-	9.65±1.24	9.27±1.45
G12f	-	-	-	-	-	-	-
G13a	8.18±0.85	-	-	12.77±1.46	-	-	-
G13f	8.38±0.56	-	-	10.78±0.69	-	-	-
G14a	9.07±0.62	-	-	15.80±1.48	-	9.23±1.02	8.45±1.83
G14f	9.03±1.68	-	-	13.90±2.35	-	8.67±0.69	7.57±0.69
G15a	-	-	-	-	-	-	-
G15b	9.36±1.81	-	9.35±2.02	13.72±3.83	7.80±0.49	-	8.42±0.23
G16a	9.86±1.78	-	-	16.17±2.77	-	-	8.18±1.05
G16r	7.95±0.90	-	-	14.47±0.88	-	-	8.13±0.20
G17a	-	-	-	13.17±2.04	-	-	-
G17b	-	-	-	9.01±1.17	-	-	-
G18b	9.29±0.50	-	-	13.15±2.28	-	-	10.33±0.72
G18f	10.20±1.35	-	7.76±0.45	15.34±1.44	8.55±0.04	-	10.32±1.77
G19a	11.11±1.44	-	7.79±0.33	11.33±0.90	-	-	8.26±0.87
G19e	12.85±0.74	-	6.95±0.52	15.78±1.36	-	-	8.80±1.39
G20a	9.74±0.40	-	7.53±0.83	12.80±2.98	-	-	7.26±0.78
G20c	12.16±0.44	-	8.34±0.71	13.99±0.45	-	-	10.38±0.87

-: Etkisiz

İzole edilerek tanımlanan LAB dondurarak kurutmaya karşı direncini test etmek için probiyotik gilaburu suyunda kullanılan *Lb. plantarum* 19e, *Lb. brevis* 15a ve *Lb. casei* 20a bakteri suşları kullanılmıştır. Bunun için liyofilizasyondan önce ve sonra, 75. gün sonunda olmak üzere 3 farklı zaman diliminde sayımlar yapılmıştır. İlgili sonuçlar Tablo 4.22’ de verilmiştir. LAB izolatlarının liyofilizasyon öncesindeki bakteri sayısı yaklaşık 11 log kob/ml düzeyinde iken, liyofilizasyondan sonra bakteri sayısı yaklaşık 10 log kob/g seviyesine düşmüştür. Bununla birlikte liyofilize edilen bakteriler 25±3 (ortam sıcaklığı), 4 ve -20°C’lerde 75 gün depolanmıştır. Bu süre sonunda LAB sayımları yapılmıştır. Depolama sonunda ise bakteri sayıları sıcaklığa bağlı olarak azalma göstermiş ve 25°C’de yaklaşık 8 log kob/g civarında sayılmıştır. En az azalma beklenildiği gibi -20 °C’de saptanmıştır.

Aynı tablo üzerinde liyofilizasyon sonrası ve depolama sonrası LAB suşlarının azalma oranları verilmiştir. Liyofilizasyon sonrası azalma oranları yaklaşık %5 iken, azalmanın sıcaklığa bağlı olarak depolama sonrası daha fazla olduğu tespit edilmiştir. *Lb. brevis*’in dondurarak kurutmaya direncinin *Lb. plantarum*’dan daha az olduğu olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4. 22. Bazı LAB izolatlarının dondurarak kurutmaya dayanıklılığı

Depolama Sıcaklığı (°C)	Liyofilizasyon Öncesi ¹	Liyofilizasyon Sonrası ²	Depolama Sonrası ²	Azalma oranı (%)	
				Liyofilizasyon Sonrası	Depolama Sonrası
	<i>Lb. brevis</i>				
25	11.25±0.52	10.66±0.32	8.25±0.20	5.2	26.7
4	11.25±0.52	10.66±0.32	9.28±0.29	5.2	17.5
-20	11.25±0.52	10.66±0.32	9.71±0.22	5.2	13.7
	<i>Lb. casei</i>				
25	11.22±0.56	10.67±0.36	8.40±0.62	4.8	25.1
4	11.22±0.56	10.67±0.36	9.42±0.15	4.8	16.0
-20	11.22±0.56	10.67±0.36	9.71±0.18	4.8	13.5
	<i>Lb. plantarum</i>				
25	11.27±0.53	10.72±0.27	8.84±0.81	4.8	21.6
4	11.27±0.53	10.72±0.27	9.98±0.59	4.8	11
-20	11.27±0.53	10.72±0.27	10.36±0.55	4.8	8

¹:log kob/ml, ²:log kob/g

4.2. LAB İle Üretilen Gilaburu Suyu Örneklerinin Analiz Sonuçları

4.2.1. Fizikokimyasal Özellikleri

LAB ilave edilerek üretilen gilaburu sularının fizikokimyasal özellikleri Tablo 4.23’de verilmiştir.

Tablo 4. 23. LAB ilaveli gilaburu suyu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri

Örnek No	0. gün	15. gün	30. gün	60. gün
Briks				
PG1	2.72 ^{Ac} ±0.04	2.75 ^{Ac} ±0.03	2.73 ^{Ab} ±0.03	2.74 ^{Ab} ±0.01
PG2	3.43 ^{Aa} ±0.03	3.38 ^{Aa} ±0.04	3.40 ^{Aa} ±0.04	3.40 ^{Aa} ±0.03
PG3	3.37 ^{Aa} ±0.10	3.37 ^{Aa} ±0.04	3.40 ^{Aa} ±0.04	3.40 ^{Aa} ±0.05
PG4	3.25 ^{Ab} ±0.09	3.27 ^{Ab} ±0.05	3.33 ^{Aa} ±0.07	3.31 ^{Aa} ±0.09
PG5	3.38 ^{Aa} ±0.04	3.35 ^{Aa} ±0.02	3.38 ^{Aa} ±0.03	3.37 ^{Aa} ±0.02
PG6	3.38 ^{Aa} ±0.02	3.38 ^{Aa} ±0.03	3.38 ^{Aa} ±0.03	3.37 ^{Aa} ±0.02
PG7	3.36 ^{Aa} ±0.07	3.31 ^{Aab} ±0.10	3.33 ^{Aa} ±0.07	3.33 ^{Aa} ±0.10
PG8	3.35 ^{Aa} ±0.04	3.36 ^{Aa} ±0.02	3.35 ^{Aa} ±0.03	3.36 ^{Aa} ±0.02
pH				
PG1	3.10 ^{Aa} ±0.00	3.08 ^{Ba} ±0.00	3.08 ^{Ba} ±0.00	3.08 ^{Ba} ±0.00
PG2	3.10 ^{Aa} ±0.00	2.97 ^{Ce} ±0.00	3.03 ^{Bd} ±0.00	3.03 ^{Bd} ±0.00
PG3	3.10 ^{Aa} ±0.00	2.95 ^{Cf} ±0.00	3.02 ^{Be} ±0.00	3.02 ^{Be} ±0.00
PG4	3.10 ^{Aa} ±0.00	2.98 ^{Cc} ±0.00	3.04 ^{Bc} ±0.00	3.04 ^{Bc} ±0.00
PG5	3.10 ^{Aa} ±0.00	3.00 ^{Cb} ±0.00	3.05 ^{Bb} ±0.00	3.05 ^{Bb} ±0.00
PG6	3.10 ^{Aa} ±0.00	2.95 ^{Cf} ±0.00	3.02 ^{Be} ±0.00	3.02 ^{Be} ±0.00
PG7	3.10 ^{Aa} ±0.00	2.98 ^{Cd} ±0.01	3.04 ^{Bc} ±0.00	3.04 ^{Bc} ±0.00
PG8	3.10 ^{Aa} ±0.00	2.98 ^{Cd} ±0.01	3.03 ^{Bd} ±0.00	3.03 ^{Bd} ±0.00
Asitlik				
PG1	0.58 ^{Cb} ±0.00	0.58 ^{Bf} ±0.00	0.59 ^{Af} ±0.00	0.59 ^{Af} ±0.00
PG2	0.57 ^{Cb} ±0.00	0.65 ^{Bb} ±0.00	0.68 ^{Aa} ±0.00	0.68 ^{Aa} ±0.00
PG3	0.56 ^{Cc} ±0.00	0.56 ^{BCg} ±0.00	0.56 ^{ABg} ±0.00	0.57 ^{Ag} ±0.00
PG4	0.57 ^{Bb} ±0.01	0.62 ^{Ac} ±0.00	0.63 ^{Ac} ±0.00	0.63 ^{Ac} ±0.00
PG5	0.58 ^{Bab} ±0.01	0.62 ^{Ac} ±0.00	0.63 ^{Ac} ±0.00	0.63 ^{Ac} ±0.00
PG6	0.58 ^{Bab} ±0.00	0.64 ^{Ad} ±0.00	0.64 ^{Ad} ±0.00	0.64 ^{Ad} ±0.00
PG7	0.58 ^{Bab} ±0.00	0.67 ^{Aa} ±0.00	0.67 ^{Ab} ±0.00	0.67 ^{Ab} ±0.00
PG8	0.59 ^{Ba} ±0.01	0.65 ^{Ac} ±0.00	0.65 ^{Ac} ±0.00	0.65 ^{Ac} ±0.00
İndirgen Şeker				
PG1	18.33 ^{Ad} ±0.28	17.49 ^{Be} ±0.30	17.47 ^{Bd} ±0.11	17.48 ^{Be} ±0.04
PG2	24.34 ^{Ab} ±0.26	23.16 ^{Bc} ±0.14	22.79 ^{Bb} ±0.15	22.78 ^{Bbc} ±0.28
PG3	24.41 ^{Ab} ±0.08	23.25 ^{Bc} ±0.02	22.66 ^{Cb} ±0.28	22.48 ^{Cc} ±0.22
PG4	24.96 ^{Aa} ±0.04	24.13 ^{Ba} ±0.13	23.65 ^{Ca} ±0.25	23.41 ^{Ca} ±0.17
PG5	24.34 ^{Ab} ±0.29	21.58 ^{Bd} ±0.10	20.95 ^{Cc} ±0.16	21.13 ^{Cd} ±0.14
PG6	23.81 ^{Ac} ±0.24	23.67 ^{Ab} ±0.05	23.30 ^{Ba} ±0.22	23.00 ^{Bab} ±0.20
PG7	24.91 ^{Aa} ±0.04	23.91 ^{Bab} ±0.04	23.30 ^{Ca} ±0.31	22.98 ^{Cab} ±0.20
PG8	24.69 ^{Aab} ±0.26	23.12 ^{Bc} ±0.19	22.71 ^{Cb} ±0.07	22.39 ^{Cc} ±0.13
Etil Alkol				
PG1	0.20 ^{Cd} ±0.00	0.47 ^{Bg} ±0.01	0.50 ^{Ag} ±0.01	0.46 ^{Bg} ±0.00
PG2	0.25 ^{Ca} ±0.00	1.28 ^{Ba} ±0.00	1.29 ^{Aa} ±0.00	1.28 ^{Ba} ±0.00
PG3	0.24 ^{Cb} ±0.00	1.18 ^{Ab} ±0.00	1.19 ^{Ab} ±0.00	1.15 ^{Bb} ±0.00
PG4	0.24 ^{Bb} ±0.00	1.13 ^{Ac} ±0.00	1.13 ^{Ad} ±0.00	1.12 ^{Ac} ±0.00
PG5	0.21 ^{Dd} ±0.00	0.93 ^{Cf} ±0.00	0.97 ^{Af} ±0.00	0.94 ^{Bf} ±0.00
PG6	0.23 ^{Dc} ±0.00	1.03 ^{Be} ±0.00	1.05 ^{Ac} ±0.00	1.00 ^{Ce} ±0.00
PG7	0.22 ^{Dc} ±0.01	1.03 ^{Be} ±0.00	1.05 ^{Ac} ±0.00	1.01 ^{Ce} ±0.00
PG8	0.24 ^{Db} ±0.00	1.08 ^{Bd} ±0.00	1.12 ^{Ac} ±0.01	1.04 ^{Cd} ±0.00

PG: Probiyotik gilaburu suyu, Asitlik: %, İndirgen Şeker: g/kg, Etil alkol: g/L, ^{A-D}: Aynı satırdaki büyük harfler her bir gilaburu örneğinin depolama süresince ölçülen fizikokimyasal özelliklerinin karşılaştırılmasıdır. ^{a-g}: Aynı sütundaki küçük harfler ise analiz edilen depolama günlerinde örneklerin fizikokimyasal özelliklerinin karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak fark (p<0.05) olduğunu gösterirken, aynı harflerle ile gösterilenler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark (p>0.05) bulunmadığını göstermektedir.

Kontrol örneğinin briks değerlerinin, LAB ilaveli örneklerle göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Kontrol örneğinin briks'i depolama sırasında yaklaşık 2.7 iken, LAB ilaveli örneklerde bu değerin yaklaşık 3-3.5 arasında olduğu belirlenmiştir. Depolama zamanının örneklerin briks değerlerine etkisinin önemli düzeyde ($p>0.05$) olmadığı, ancak örnek tipinin etkisinin ($p<0.05$) olduğu istatistiksel olarak saptanmıştır.

Gilaburu suyu örneklerinin pH değerleri depolamanın başlangıcında 3.10 iken 15. gün sonunda kontrol örneğinde 3.08 değerinde diğer örneklerde ise bir örnekte pH 3 iken diğerlerinde pH 3'ün altına inmiştir. Örneklerin pH değerleri 30. gün sonunda kontrol örneğinde pH değeri değişmezken diğer örneklerde kısmi yükselme olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte depolamanın sonunda örneklerin pH değerleri 30. güne göre bir değişiklik göstermemiştir. İstatistiki olarak depolamanın ve örnek çeşidinin gilaburunun pH değerlerinde etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Örneklerin % asitlik değerleri incelendiğinde ise 0. gün yaklaşık %0.57 iken 30. gün sonunda ise 2 örnek (PG1 ve PG3) hariç diğerlerinde bir yükselme olduğu saptanmıştır. Örneklerin asitlik değerlerinde depolama artıka kısmi yükselmeler olmuştur. İstatistiksel olarak depolamanın ve örnek çeşidinin asitlik değerlerine etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Örneklerin indirgen şeker değerleri başlangıçta kontrol haricinde diğer örneklerde yaklaşık 24 g/kg olarak belirlenmiştir. Depolama artıka indirgen şeker miktarı azalma göstermiştir. Yine indirgen şeker açısından da istatistiksel olarak depolama zamanının ve örnek çeşidinin etkisi önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Örneklerin etil alkol miktarları başlangıçta yaklaşık 0.23 g/L iken depolama ile birlikte bir artış gözlemlenmiştir. Depolamanın 30. gününe kadar örneklerin alkol miktarları artış gösterirken 60. günde kısmi bir azalma gözlemlenmiştir. İstatistiksel olarak depolama zamanı ve örnek çeşidinin önemli olduğu saptanmıştır.

Gilaburu örneklerinde ayrıca protein, kül, yağ ve ham selüloz analizleri de yapılmıştır. Elde edilen sonuçların çok düşük ve önemsiz düzeyde olduğundan tabloda verilmemiştir.

4.2.2. Probiyotik Gilaburu Örneklerinin Biyoaktif Özelliklerini Gösteren Analiz Sonuçları

Üretilen gilaburu örneklerinin biyoaktif özelliklerini gösteren analizler olarak 4 farklı analiz yürütülmüştür. Bunlar askorbik asit (C vitamini), toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivite ve serbest radikal temizleme aktivitesidir. Bu analizlerle ilgili sonuçlar Tablo 4.24’ te verilmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere örneklerin askorbik asit değerleri depolamanın başlangıcında yaklaşık 16 mg/100ml olarak bulunmuştur. Tüm gilaburu örneklerinin depolama süresi arttıkça askorbik asit değerlerinde azalma gözlenmiştir. Depolamanın sonunda ise örneklerin askorbik asit değerleri yaklaşık 14 mg/100ml olarak tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak depolama zamanının gilaburu örneklerinin askorbik asit değerlerine etkisi önemli bulunmuştur. Bununla birlikte yine 0. ve 15. gün’ de örnek çeşidinin etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu diğer depolama günlerinde ise önemli ($p>0.05$) olmadığı belirlenmiştir.

Örneklerin toplam fenolik madde (TFM) miktarları 0. gün 158-177 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 mL arasında bulunmuştur. Örneklerin TFM miktarları genel olarak depolama süresi arttıkça bir azalma göstermiştir. Bu azalma kontrol örneğinde daha az olduğu, LAB ilaveli örneklerde ise bu azalmanın daha fazla olduğu tespit edilmiştir. LAB ilaveli gilaburu örneklerinde meydana gelen bu azalma özellikle 15. günde kendisini göstermiş bununla birlikte diğer 30. ve 60. günlerde ise azalma daha az olmuştur. Özellikle de PG2, PG3, PG5 ve PG7 nolu örneklerde daha fazla olmuştur. 60. gün sonunda kontrol, PG4, PG6 ve PG8 nolu örneklerde TFM daha fazla olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak depolama zamanının ve örnek çeşidinin örneklerin TFM üzerine etkinin önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır.

Gilaburu örneklerinin antioksidan aktivite değerleri yine aynı tabloda (Tablo 4.24) verilmiştir. Örneklerde antioksidan aktivite 0. gün yaklaşık 6-7 mg askorbik asit eşdeğeri (AAE)/mL olarak bulunmuştur. Yine burada da askorbik asit ve TFM’ de olduğu gibi depolama zamanı arttıkça antioksidan aktivite değerlerinde bir azalma meydana gelmiştir. Bu azalma kontrol örneğinde daha az olurken PG3, PG4 ve PG5 nolu örneklerde daha fazla olmuştur.

Depolamanın sonunda en yüksek antioksidan aktivite değeri kontrol ve PG8 nolu örneklerde sırasıyla 7.15 ve 7.01 mg askorbik asit eşdeğeri (AAE)/mL olduğu saptanmıştır. İstatistiksel

olarak kontrol örneği haricinde depolamanın örneklerin askorbik asit değerlerine etkisi ($p<0.05$) önemli bulunmuş olup 0. gün haricinde ise örnek çeşidinin etkisinin ($p<0.05$) önemli olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4. 24. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin biyoaktif özellikleri

Örnek No	0. gün	15. gün	30.gün	60. gün
Askorbik Asit				
PG1	17.73 ^{Aa} ±0.25	17.14 ^{Aa} ±0.29	15.32 ^{Ba} ±0.12	14.66 ^{Ba} ±0.07
PG2	16.00 ^{Aab} ±0.14	15.33 ^{Ab} ±0.15	15.03 ^{Aa} ±0.02	14.26 ^{Aa} ±0.02
PG3	16.50 ^{Aab} ±0.18	15.93 ^{ABab} ±0.18	15.08 ^{BCa} ±0.07	13.99 ^{Ca} ±0.08
PG4	16.13 ^{Aab} ±0.34	15.53 ^{ABab} ±0.38	15.01 ^{ABa} ±0.04	14.48 ^{Ba} ±0.11
PG5	16.86 ^{Aab} ±0.12	16.35 ^{Aab} ±0.19	15.48 ^{ABa} ±0.14	14.47 ^{Ba} ±0.12
PG6	15.57 ^{Ab} ±0.35	15.05 ^{Aab} ±0.45	14.72 ^{Aa} ±0.06	14.52 ^{Aa} ±0.26
PG7	17.34 ^{Aab} ±0.06	16.75 ^{Aab} ±0.05	15.42 ^{ABa} ±0.03	14.78 ^{Ba} ±0.07
PG8	17.03 ^{Aab} ±0.08	16.86 ^{Aab} ±0.37	15.24 ^{Ba} ±0.29	14.10 ^{Ba} ±0.12
Toplam Fenolik Miktarı				
PG1	177.94 ^{Aa} ±0.36	175.97 ^{Aa} ±1.30	173.38 ^{Aa} ±0.53	172.99 ^{Aa} ±0.01
PG2	160.01 ^{Ac} ±1.05	130.76 ^{Be} ±0.84	130.40 ^{Be} ±0.03	129.80 ^{Be} ±0.21
PG3	158.68 ^{Ac} ±0.48	129.84 ^{Be} ±1.06	129.31 ^{Be} ±0.32	129.58 ^{Be} ±0.00
PG4	171.71 ^{Aab} ±0.97	162.59 ^{Bb} ±0.29	159.81 ^{Bb} ±0.31	159.73 ^{Bb} ±0.32
PG5	164.47 ^{Abc} ±1.10	139.65 ^{Bd} ±0.77	140.16 ^{Bd} ±0.14	139.86 ^{Bd} ±0.04
PG6	164.00 ^{Abc} ±0.93	152.17 ^{Bc} ±0.71	151.51 ^{Bc} ±0.16	151.12 ^{Bc} ±0.09
PG7	165.66 ^{Abc} ±0.63	140.39 ^{Bd} ±0.13	140.38 ^{Bd} ±0.02	139.85 ^{Bd} ±0.23
PG8	170.52 ^{Aab} ±0.47	161.74 ^{Bb} ±0.51	160.86 ^{Bb} ±0.01	159.37 ^{Bb} ±0.05
Antioksidan Aktivite				
PG1	7.23 ^{Aa} ±0.01	7.23 ^{Aa} ±0.01	7.17 ^{Aa} ±0.04	7.15 ^{Aa} ±0.05
PG2	7.12 ^{Aa} ±0.14	6.65 ^{Bb} ±0.20	6.70 ^{Bb} ±0.11	6.63 ^{Bb} ±0.10
PG3	7.15 ^{Aa} ±0.16	6.38 ^{Bbc} ±0.01	6.31 ^{Bc} ±0.04	6.29 ^{Bc} ±0.02
PG4	6.91 ^{Aa} ±0.01	6.07 ^{Bc} ±0.10	6.05 ^{Bc} ±0.00	5.94 ^{Bd} ±0.07
PG5	7.06 ^{Aa} ±0.04	6.40 ^{Bbc} ±0.02	6.36 ^{Bc} ±0.00	6.28 ^{Bc} ±0.04
PG6	6.93 ^{Aa} ±0.01	6.26 ^{Bbc} ±0.07	6.22 ^{Bc} ±0.04	6.18 ^{Bcd} ±0.07
PG7	6.95 ^{Aa} ±0.01	6.13 ^{Bbc} ±0.02	6.19 ^{Bc} ±0.01	6.13 ^{Bcd} ±0.07
PG8	7.18 ^{Aa} ±0.06	7.21 ^{Ba} ±0.25	7.10 ^{Ba} ±0.06	7.01 ^{Ba} ±0.04
Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi				
PG1	23.24 ^{Aa} ±0.05	22.40 ^{Bc} ±0.05	22.35 ^{Bc} ±0.14	22.06 ^{Bc} ±0.02
PG2	21.95 ^{Bb} ±0.09	27.13 ^{Ab} ±0.15	27.20 ^{Ab} ±0.04	22.50 ^{Bbc} ±0.01
PG3	22.23 ^{Bb} ±0.23	27.29 ^{Aab} ±0.28	26.93 ^{Ab} ±0.08	22.46 ^{Bbc} ±0.07
PG4	21.79 ^{Bb} ±0.04	26.86 ^{Ab} ±0.02	26.79 ^{Ab} ±0.05	22.11 ^{Bc} ±0.04
PG5	22.34 ^{Bb} ±0.31	27.05 ^{Ab} ±0.15	26.99 ^{Ab} ±0.03	22.99 ^{Bab} ±0.19
PG6	22.62 ^{Bab} ±0.11	27.85 ^{Aa} ±0.13	28.04 ^{Aa} ±0.05	22.96 ^{Bab} ±0.02
PG7	22.03 ^{Cb} ±0.08	26.95 ^{Ab} ±0.14	27.08 ^{Ab} ±0.04	22.67 ^{Babc} ±0.08
PG8	22.40 ^{Bab} ±0.11	27.96 ^{Aa} ±0.07	27.90 ^{Aa} ±0.07	23.18 ^{Ba} ±0.23

PG: Probiyotik gilaburu suyu, Askorbik asit: mg/100 mL, Toplam fenolik: mg Gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 mL, Antioksidan aktivite: mg Askorbik asit eşdeğeri (AAE)/mL, Antiradikal aktivite: % inhibisyon, ^{A-C}: Aynı satırdaki büyük harfler her bir gilaburu örneğinin depolama süresince ölçülen biyoaktif özelliklerinin karşılaştırılmasıdır. ^{a-e}: Aynı sütundaki küçük harfler ise analiz edilen depolama günlerinde örneklerin biyoaktif özelliklerinin karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak fark ($p<0.05$) olduğunu gösterirken, aynı harflerle ile gösterilenler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark ($p>0.05$) bulunmadığını göstermektedir.

Örneklerin antiradikal aktiviteleri, serbest radikal temizleme aktivitesi analizi ile ölçülmüştür. Depolamanın başlangıcında antiradikal aktiviteleri %21-23 arasında bulunmuştur. Bu değerler 15. ve 30. günlerde artış göstermiş olup, 60. gün sonunda tekrar düşmüştür. Depolamanın sonunda antiradikal aktiviteleri yaklaşık %22 inhibisyon olarak ölçülmüştür. İstatistiksel olarak depolama zamanının ve örnek çeşidinin gilaburu örneklerinin antiradikal aktivitelerine etkisinin ($p<0.05$) önemli olduğu belirlenmiştir.

4.2.3. Probiyotik Gilaburu Örneklerinin Duyusal Analiz Sonuçları

Üretilen gilaburu örneklerinde yapılan duyusal analiz sonucunda elde edilen değerler, Tablo 4.25' te verilmiştir. Örnekler 8 eğitimli, gilaburu suyuna karşı önyargısı olmayan ve gilaburu suyunu bilen panelistlerden oluşmuş olup panelistler; renk ve görünüm, tat, koku ve genel beğeni açısından değerlendirmişlerdir. Örneklerin renk özellikleri panelistlerden yüksek puanlar almıştır. Renk ve görünüm puanları istatistiksel olarak önemli ($p>0.05$) olmadığı tespit edilmiştir.

Örneklerin tat özellikleri, 0. gün 3.0-3.8 arasında puan alırken, 15. gün sonunda 3.3-3.8 arasında puanlandırılmıştır. Bununla birlikte en fazla puan alan örneklerin PG3, PG4, PG6 ve PG7 nolu örneklerin olduğu tespit edilmiştir. Burada da yine depolamanın ve örnek çeşidinin gilaburu örneklerinin tat değerleri üzerine istatistiksel olarak etkisinin ($p>0.05$) olmadığı tespit edilmiştir. Örnekler, koku özellikleri açısından değerlendirildiğinde, depolamanın başlangıcında 3.1-3.8 arasında puan aldıkları ve depolamanın sonunda ise değerlerin yükselerek 3.4-3.7 arasında puanlar aldıkları tespit edilmiştir.

Gilaburu sularının genel beğeni özellikleri incelendiğinde ise, LAB ilave edilmiş örnekler, genel itibariyle tüm depolama zamanlarında daha fazla puan almışlardır. Tüm depolama zamanları dikkate alınarak diğer örneklerle karşılaştırıldığında, PG6 ve PG7 nolu örnekler, 3.7-3.8 arasında olmak üzere daha fazla puanlar alarak nisbeten daha fazla beğenilmişlerdir. Ancak istatistiksel olarak, depolamanın ve örnek çeşidinin gilaburu suyu örneklerinin genel beğeni özelliklerine etkisinin ($p>0.05$) olmadığı belirlenmiştir. Bu örneklerin dışında en fazla puan alan örnekler olarak PG3 ve PG8 nolu gilaburu suyu örnekleri olmuştur. PG2 ve PG5 nolu örneklerin depolama süresince aldıkları genel beğeni puanları ise değişkenlik

göstermiştir. PG1 kodlu kontrol örneği ise 15. günde en yüksek puanı almış ve depolamanın ilerleyen 30. ve 60. günlerinde aldığı puanlar gittikçe azalmıştır.

Tablo 4. 25. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin duyu analizi sonuçları

Örnek No	0.gün	15. gün	30. gün	60. gün
Renk ve Görünüm				
PG1	4.3 ^{Aa} ±0.2	4.2 ^{Aa} ±0.0	3.9 ^{Aa} ±0.1	4.0 ^{Aa} ±0.0
PG2	4.3 ^{Aa} ±0.1	4.0 ^{Aa} ±0.0	4.1 ^{Aa} ±0.1	4.0 ^{Aa} ±0.0
PG3	4.3 ^{Aa} ±0.1	4.1 ^{Aa} ±0.1	4.0 ^{Aa} ±0.0	4.0 ^{Aa} ±0.0
PG4	4.4 ^{Aa} ±0.1	4.3 ^{Aa} ±0.1	4.3 ^{Aa} ±0.1	3.8 ^{Ba} ±0.1
PG5	4.3 ^{Aa} ±0.0	4.2 ^{Aa} ±0.0	4.2 ^{Aa} ±0.0	4.0 ^{Aa} ±0.0
PG6	4.3 ^{Aa} ±0.1	4.2 ^{Aa} ±0.0	4.2 ^{Aa} ±0.0	3.9 ^{Aa} ±0.1
PG7	4.3 ^{Aa} ±0.0	4.1 ^{Aa} ±0.1	4.2 ^{Aa} ±0.0	3.8 ^{Aa} ±0.0
PG8	4.2 ^{Aa} ±0.0	4.1 ^{Aa} ±0.1	4.0 ^{Aa} ±0.3	3.9 ^{Aa} ±0.1
Tat				
PG1	3.0 ^{Ab} ±0.2	3.3 ^{Aa} ±0.5	3.3 ^{Aa} ±0.1	3.3 ^{Aa} ±0.2
PG2	3.0 ^{Ab} ±0.0	3.5 ^{Aa} ±0.5	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.3 ^{Aa} ±0.5
PG3	3.8 ^{Aab} ±0.1	3.5 ^{Aa} ±0.0	3.5 ^{Aa} ±0.2	3.7 ^{Aa} ±0.2
PG4	3.8 ^{Aab} ±0.1	3.6 ^{Aa} ±0.1	3.7 ^{Aa} ±0.0	3.5 ^{Aa} ±0.5
PG5	3.4 ^{Aab} ±0.1	3.7 ^{Aa} ±0.0	3.6 ^{Aa} ±0.1	3.3 ^{Aa} ±0.0
PG6	3.7 ^{Aab} ±0.5	3.8 ^{Aa} ±0.2	3.7 ^{Aa} ±0.0	3.6 ^{Aa} ±0.1
PG7	3.8 ^{Aa} ±0.2	3.6 ^{Aa} ±0.4	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.6 ^{Aa} ±0.1
PG8	3.4 ^{Aab} ±0.1	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.6 ^{Aa} ±0.3	3.5 ^{Aa} ±0.4
Koku				
PG1	3.3 ^{Aa} ±0.0	3.7 ^{Aa} ±0.0	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.6 ^{Aa} ±0.3
PG2	3.1 ^{Ba} ±0.4	3.6 ^{ABa} ±0.6	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.6 ^{ABa} ±0.1
PG3	3.5 ^{Aa} ±0.0	3.5 ^{Aa} ±0.0	3.9 ^{Aa} ±0.1	3.7 ^{Aa} ±0.2
PG4	3.6 ^{Aa} ±0.1	3.8 ^{Aa} ±0.4	3.8 ^{Aa} ±0.2	3.7 ^{Aa} ±0.2
PG5	3.6 ^{Aa} ±0.6	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.8 ^{Aa} ±0.2	3.6 ^{Aa} ±0.1
PG6	3.5 ^{Aa} ±0.0	3.8 ^{Aa} ±0.2	3.8 ^{Aa} ±0.0	3.7 ^{Aa} ±0.0
PG7	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.8 ^{Aa} ±0.4	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.4 ^{Aa} ±0.4
PG8	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.8 ^{Aa} ±0.0	3.8 ^{Aa} ±0.0	3.7 ^{Aa} ±0.2
Genel Beğeni				
PG1	3.2 ^{Aa} ±0.2	3.6 ^{Aa} ±0.6	3.5 ^{Aa} ±0.0	3.4 ^{Aa} ±0.3
PG2	3.1 ^{Ba} ±0.1	3.5 ^{ABa} ±0.5	3.9 ^{Aa} ±0.1	3.5 ^{ABa} ±0.2
PG3	3.7 ^{Aa} ±0.0	3.5 ^{Aa} ±0.2	3.5 ^{Aa} ±0.5	3.8 ^{Aa} ±0.1
PG4	3.7 ^{Aa} ±0.2	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.7 ^{Aa} ±0.0	3.4 ^{Aa} ±0.4
PG5	3.4 ^{ABa} ±0.1	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.7 ^{ABa} ±0.0	3.3 ^{Ba} ±0.1
PG6	3.7 ^{Aa} ±0.2	3.8 ^{Aa} ±0.0	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.8 ^{Aa} ±0.1
PG7	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.7 ^{Aa} ±0.2	3.8 ^{Aa} ±0.1	3.7 ^{Aa} ±0.2
PG8	3.5 ^{Aa} ±0.2	3.8 ^{Aa} ±0.2	3.6 ^{Aa} ±0.3	3.6 ^{Aa} ±0.3

Puanlandırma; 4-5 arası: Çok beğendim, 3-4 arası: Beğendim, 2-3 arası: Orta derecede beğendim, 1-2: arası: Beğenmedim, 1: Hiç beğenmedim, ^{A-B}: Aynı satırdaki büyük harfler her bir gilaburu örneğinin depolama süresince duyu özelliklerinin karşılaştırılmasıdır. ^{a-d}: Aynı sütundaki küçük harfler ise analiz edilen örneklerin depolama günlerinde duyu özelliklerinin karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak fark (p<0.05) olduğunu gösterirken, aynı harflerle ile gösterilenler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığını göstermektedir.

4.2.3. Probiyotik Gilaburu Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri olarak LAB, TMAB ve *Alicyclobacillus* spp. sayıları incelenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.26' da verilmiştir. LAB türleri gilaburu suyuna 10^8 düzeylerinde ilave edilmiş. Kontrol örneği dışındaki yani LAB ilave edilmiş gilaburu suyu örneklerinde LAB sayıları 8.42-9.49 log kob/ml arasında bulunmuştur. En yüksek LAB sayısı 3 farklı LAB (*Lb. brevis*, *Lb. casei* ve *Lb. plantarum*) olan PG8 nolu örnekte olduğu belirlenmiştir. Kontrol örneğinde ise doğal olarak LAB sayısı tespit edilememiştir. Çünkü gilaburu suları kullanmadan önce pastörize edilmiştir. Örneklerin LAB sayıları depolama süresi boyunca azalma göstermiştir. Sadece *Lb. casei* 'nin olduğu PG2 nolu örnekte 15. gün LAB sayısı tespit edilebilir limitlerin altında olduğu tespit edilmiştir. dolayısıyla *Lb. casei* gilaburu suyunda 15. gün sonunda canlı kalamamıştır. Kontrol ve PG2 nolu örnek dışındaki diğer örneklerde ise LAB sayıları 6.50-7.60 log kob/ml arasında değişmiş olup yaklaşık 2 log kob/ml bir azalma meydana gelmiştir. Yine 3 farklı LAB olduğu örnekte yani PG8 nolu örnekte 15. gün sonunda LAB sayısı (7.60 log kob/ml) daha fazla bulunmuştur. Kontrol ve PG2 nolu örneklerin LAB sayıları 30. ve 60. günlerde de saptanabilir limitlerin altında bulunmuştur. Örneklerin (PG3, PG4, PG5, PG6, PG7 ve PG8) LAB sayılarında 30. gün sonunda yine bir önceki depolama zamanına göre yaklaşık 2 log kob/ml bir azalma olmuştur. Örneklerin LAB sayıları 4.38-5.80 log kob/ml arasında değişmiştir. Yine bu depolama zamanında PG8 nolu örneğin LAB sayısı daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin LAB sayılarında 60. gün sonunda da azalma olmuş ancak bu azalma yaklaşık 1 log kob/ml düzeylerinde olmuştur. Örneklerin LAB sayıları 3.50-4.61 log kob/ml arasında değişmiştir. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde depolama zamanının ve örnek çeşidinin LAB sayılarına etkisinin ($p < 0.05$) önemli olduğu belirlenmiştir.

Örneklerin TMAB sayıları incelendiğinde ise LAB sayılarına benzerlik göstermiş olup besiyeri üzerinde sayımı yapılan kolonilerin gilaburu suyuna ilave edilen LAB olduğu düşünülmektedir. TMAB sayıların da depolama zamanı arttıkça bir azalma meydana gelmiştir. Depolamanın sonunda örneklerin TMAB sayıları 3.38-4.57 log kob/ml arasında değişmiştir. Yine tüm depolama zamanlarında kontrol örneğinde TMAB saptanabilir limitlerin altında olduğu PG2 örneğinde ise 15. gün ve sonrasında olduğu tespit edilmiştir.

İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde ise burada da LAB sayılarında olduğu gibi hem depolama hem de örnek çeşidinin etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir.

Üretilen gilaburu örneklerinde ayrıca *Alicyclobacillus* ssp. analizi yapılmıştır. Örneklerin hiçbirisinde *Alicyclobacillus* spp. tespit edilememiştir. Yani bu bakteri cinsinin sayısı tespit edilebilir limitlerin altındadır.

Tablo 4. 26. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin mikrobiyolojik özellikler

Örnek No	0. gün	15. gün	30. gün	60.gün
LAB¹				
PG1	<1 ^{Ac}	<1 ^{Ac}	<1 ^{Ac}	<1 ^{Ac}
PG2	8.45 ^{Ab} ±0.17	6.55 ^{Bb} ±0.33	4.63 ^{Cb} ±0.38	3.50 ^{Db} ±0.24
PG3	8.45 ^{Ab} ±0.17	<1 ^{Bc}	<1 ^{Bc}	<1 ^{Bc}
PG4	8.61 ^{Ab} ±0.23	6.57 ^{Bb} ±0.32	4.38 ^{Cb} ±0.15	3.55 ^{Db} ±0.17
PG5	8.42 ^{Ab} ±0.24	6.72 ^{Bb} ±0.29	4.42 ^{Cb} ±0.24	3.57 ^{Db} ±0.20
PG6	8.72 ^{Ab} ±0.15	6.50 ^{Bb} ±0.39	4.50 ^{Cb} ±0.24	3.53 ^{Db} ±0.15
PG7	8.57 ^{Ab} ±0.32	6.50 ^{Bb} ±0.24	4.60 ^{Cb} ±0.35	3.65 ^{Db} ±0.09
PG8	9.49 ^{Aa} ±0.20	7.60 ^{Ba} ±0.25	5.80 ^{Ca} ±0.34	4.61 ^{Da} ±0.23
TMAB¹				
PG1	<1 ^{Bc}	<1 ^{Ac}	<1 ^{Ac}	<1 ^{Ac}
PG2	7.45 ^{Ab} ±0.17	5.45 ^{Bb} ±0.17	4.45 ^{Cb} ±0.17	3.42 ^{Db} ±0.24
PG3	7.42 ^{Ab} ±0.24	<1 ^{Bc}	<1 ^{Bc}	<1 ^{Bc}
PG4	7.53 ^{Ab} ±0.15	5.38 ^{Bb} ±0.15	4.16 ^{Cb} ±0.13	3.38 ^{Db} ±0.15
PG5	7.73 ^{Ab} ±0.51	5.65 ^{Bb} ±0.26	4.31 ^{Cb} ±0.73	3.50 ^{Db} ±0.24
PG6	7.50 ^{Ab} ±0.24	5.42 ^{Bb} ±0.24	4.11 ^{Cb} ±0.87	3.45 ^{Cb} ±0.17
PG7	7.53 ^{Ab} ±0.29	5.69 ^{Bb} ±0.33	4.50 ^{Cb} ±0.24	3.53 ^{Db} ±0.15
PG8	8.46 ^{Aa} ±0.16	6.50 ^{Ba} ±0.24	5.45 ^{Ca} ±0.30	4.57 ^{Da} ±0.20
<i>Alicyclobacillus</i> spp.¹				
PG1	<1	<1	<1	<1
PG2	<1	<1	<1	<1
PG3	<1	<1	<1	<1
PG4	<1	<1	<1	<1
PG5	<1	<1	<1	<1
PG6	<1	<1	<1	<1
PG7	<1	<1	<1	<1
PG8	<1	<1	<1	<1

PG: Probiyotik gilaburu suyu, ¹: log kob/ml, ^{A-D}: Aynı satırdaki büyük harfler her bir gilaburu örneğinin depolama süresince ölçülen mikrobiyolojik özelliklerinin karşılaştırılmasıdır. ^{a-c}: Aynı sütundaki küçük harfler ise analiz edilen depolama günlerinde örneklerin mikrobiyolojik özelliklerinin karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak fark (p<0.05) olduğunu gösterirken, aynı harflerle gösterilenler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark (p>0.05) bulunmadığını göstermektedir.

4.2.4. Probiyotik Gilaburu Örneklerinin Uçucu Aroma Bileşenleri

Probiyotik gilaburu örneklerinin depolama süresi boyunca belirlenen aroma bileşenleri Tablo 4.27, 4.28, 4.29 ve 4.30 ‘ da verilmiştir. Genel itibariyle probiyotik gilaburu örneklerinde bulunan major uçucu aroma bileşeni limonen olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşen yaklaşık

olarak %74-86 arasında değişiklik göstermiştir. Bu bileşenin dışında α -terpineol diğer major bileşen olarak belirlenmiş olup bunları ise myrcene, terpinene-4-ol ve β -caryophyllene izlemiştir. 0. Gün aroma bileşenleri incelendiğinde limonen %76.72-86.25 arasında belirlenmiştir. Bununla birlikte örneklerde α -terpineol %2.89-5.23 arasında bulunmuştur.

Tablo 4. 27. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin 0. gün belirlenen aroma bileşenleri

Uçucu Bileşen	Örnek							
	PG1	PG2	PG3	PG4	PG5	PG6	PG7	PG8
Myrcene	1.71	1.86	1.81	1.68	1.54	1.78	1.73	1.85
Limonen	81.11	86.25	84.73	79.66	76.72	85.41	84.25	77.16
Ocimene	0.58	-	-	0.56	-	-	-	-
Nonanol	0.79	0.61	0.98	0.98	0.90	0.74	0.79	1.33
Linalol	0.49	0.58	0.69	1.08	0.71	0.51	0.58	0.75
β -terpineol	0.85	0.36	0.68	0.79	0.77	0.67	0.94	1.00
Terpinene-4-ol	1.26	1.01	1.39	1.58	1.45	1.13	1.25	1.70
α -terpineol	4.16	2.89	3.40	5.23	3.81	3.33	4.29	4.67
1-decanol	0.36	0.39	0.45	0.59	0.56	0.39	0.36	0.40
<i>trans,trans</i> -2,4-hexadienal	0.20	0.19	-	-	-	0.16	-	-
α -copaene	0.28	0.28	0.31	0.33	0.26	0.25	0.23	0.31
β -caryophyllene	1.40	1.44	1.59	1.78	1.50	1.39	1.27	1.55
θ -cadinene	0.61	0.70	0.83	0.95	0.81	0.66	0.64	0.70
2-metil-1-hexadecanol	0.12	-	-	-	-	-	-	-
Lauryl alkol	0.08	0.09	0.06	0.09	0.10	0.05	0.08	0.06
Pentadecane	0.17	-	-	-	-	-	-	-
γ -eudesmol	0.14	0.08	-	0.12	-	-	0.10	-
Terpinolene	0.55	0.48	0.56	0.79	0.56	0.65	0.78	0.60
Octyl asetat	0.18	0.24	-	-	-	-	-	-
2,4-hexadienal 1	0.22	-	-	-	0.34	0.25	0.22	-
Nonyl asetat	0.14	0.15	-	-	-	-	-	-
α -cubebene	0.24	-	0.20	0.19	0.17	0.11	-	0.28
Linalyl butyrate	0.23	0.26	0.28	0.32	-	0.28	0.28	-
1,2-decanediol	0.25	0.45	-	0.45	0.19	-	-	-
Valencene	0.11	-	-	0.09	-	-	-	-
Linalyl formate	-	-	-	-	-	-	0.65	-
θ -3-carene	-	0.66	0.61	0.63	0.50	0.63	-	0.61
Terpin hydrate	-	-	-	-	-	0.29	-	-
Decyl asetat	-	0.11	-	-	-	-	-	-
<i>n</i> -hexadecane	-	0.09	-	-	0.11	-	-	-
<i>n</i> -tetradecane	-	0.27	-	-	-	0.12	-	-
Torreyol	-	0.18	0.16	-	0.12	0.14	0.12	-
γ -terpinene	-	-	0.62	-	0.58	0.65	0.59	-
Vitispirane	-	-	-	0.37	0.29	0.21	0.40	-
<i>trans</i> (β)-caryophyllene	-	-	-	0.55	-	-	-	-
2,4-hexadienal	-	-	-	0.34	-	-	-	-
Lauric aldehyt	-	-	-	0.12	-	-	-	0.08
Oxime-, methoxy-fenil-	-	-	-	-	1.83	-	-	2.83

-:tespit edilemedi

Ayrıca myrcene, limonen, nonanol, linalol, β -terpineol, terpinene-4-ol, α -terpineol, 1-decanol, α -copaene, β -caryophyllene, θ -cadinene, lauryl alkol ve terpinolene uçucu bileşenleri tüm gilaburu örneklerinde bulunurken 2-metil-1-hexadecanol, pentadecane, linalyl formate, terpin hydrate, decyl asetat, trans (β)-caryophyllene ve 2,4-hexadienal bileşenleri ise sadece bir gilaburu suyu örneğinde bulunduğu tespit edilmiştir. Linalyl formate, θ -3-carene, terpin hydrate, decyl asetat, n-hexadecane, n-tetradecane, torreyol, γ -terpinene, vitispirane, trans (β)-caryophyllene, 2,4-hexadienal, lauric aldehit ve oxime-, methoxy-fenil- bileşenleri LAB ilave edilmiş örneklerde tespit edilirken kontrol örneğinde bu bileşenlere rastlanılamamıştır. 2-Metil-1-hexadecanol uçucu bileşeni ise sadece kontrol örneğinde tespit edilmiştir.

Gilaburu örneklerinde 15. gün sonunda da limonen major bileşen olup %78.83-85.27 arasında bulunmuştur. α -terpineol 15. günde bazı örneklerde artış göstermiştir. 0. günde belirlenen terpin hydrate, 2-metil-1-hexadecanol, linalyl formate, oxime-, methoxy-fenil-, 2,4-hexadienal ve trans (β)-caryophyllene bileşenleri bu depolama zamanında tespit edilememiştir. Bununla birlikte cadina-1,4-diene, 2,4-dimetil-1,3-pentadiene ve n-octadecane bileşenleri ise 15. gün sonunda gilaburu örneklerinde belirlenmiştir. 30. gün örneklerinde ise limonen, α -terpineol, myrcene, terpinene-4-ol ve β -caryophyllene bileşenlerinin miktarlarında değişiklik olsa da yine de major bileşen özellikleri değişmemiştir. Ayrıca 0. ve 15. gün örneklerinde olan n-tetradecane, γ -eudesmol, lauryl alkol, decyl asetat, ocimene ve lauric aldehit uçucu bileşenleri bu depolama zamanında gilaburu örneklerinde tespit edilememiştir. Depolamanın son aşamasında ise major bileşenler değişmemekle birlikte Bisabolene, α -guaiene, 3,7-dimetil-1-oktanol ve n-eicosane uçucu bileşenleri tespit edilmiştir.

Tablo 4. 28. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin 15. gün belirlenen aroma bileşenleri

Uçucu Bileşen	Örnek							
	PG1	PG2	PG3	PG4	PG5	PG6	PG7	PG8
Myrcene	1.80	1.77	1.69	1.51	1.62	1.68	1.41	1.63
Limonen	85.27	84.20	84.52	78.83	81.94	84.41	79.36	81.53
γ -terpinene	0.59	0.27	0.54	-	0.53	-	-	-
Nonanol	0.72	0.83	0.79	1.24	1.10	0.78	0.99	1.32
Terpinolene	0.52	0.55	0.73	0.79	0.65	0.62	0.83	0.65
Linalol	0.54	0.59	0.53	0.83	0.71	0.54	0.77	0.82
β -terpineol	0.63	0.70	-	1.35	0.87	0.69	1.00	0.96
Terpinene-4-ol	1.10	1.25	1.15	1.88	1.60	1.19	1.55	1.77
α -terpineol	3.41	3.79	3.01	6.59	4.50	3.75	5.73	4.93
1-decanol	0.40	0.44	0.40	0.64	0.58	0.45	0.59	0.55
<i>trans,trans</i> -2,4-hexadienal	0.17	-	-	-	-	-	-	0.25
α -copaene	0.23	0.29	0.37	0.29	0.33	0.30	0.32	0.37
β -caryophyllene	1.34	1.61	1.92	1.58	1.84	1.65	1.81	2.04
θ -cadinene	0.61	0.73	0.90	0.79	0.89	0.79	0.93	0.94
γ -eudesmol	0.09	0.09	-	0.13	0.13	0.10	0.12	-
α -cubebene	0.15	0.14	0.15	-	0.21	0.16	0.17	0.21
θ -3-carene	0.64	-	0.56	-	-	0.58	0.49	0.50
Octyl asetat	0.27	0.25	-	-	-	-	-	-
Nonyl asetat	0.16	0.17	-	-	-	-	-	-
Decyl asetat	0.09	0.13	-	-	-	-	-	-
Linalyl butyrate	0.25	-	0.38	0.27	0.30	-	0.35	0.35
Torreyol	0.12	0.15	-	0.23	-	0.17	-	0.17
Ocimene	-	0.58	-	-	0.53	0.57	-	-
2,4-dimetilbenzaldehit	-	-	-	-	-	-	0.24	-
2,4-hexadienal 1	-	0.31	0.25	0.33	-	-	0.23	-
1,2-decanediol	-	-	-	0.44	0.24	0.40	0.49	0.24
Vitispirane	-	0.22	0.25	0.45	0.29	0.22	-	0.32
(E,E)- 2,4-hexadienal	-	0.20	-	0.38	-	-	-	-
Metil 2-hydroxydecanoate	-	0.31	-	-	-	-	-	-
<i>n</i> -tetradecane	-	0.19	-	-	-	0.05	-	-
Lauric aldehit	-	-	-	0.14	-	-	-	-
Lauryl alkol	-	-	-	0.10	-	-	-	-
Cadina-1,4-diene	-	-	-	0.10	-	-	0.10	-
Valencene	-	-	-	0.13	-	-	0.14	0.13
4-methylcyclohexanol asetat	-	-	-	-	0.31	-	-	-
Pentadecane	-	-	-	-	0.33	-	-	-
<i>n</i> -hexadecane	-	-	-	-	0.29	-	-	-
Copaene	-	-	-	-	0.18	-	-	-
2,4-dimetil-1,3-pentadiene	-	-	-	-	-	0.26	-	-
1-dodecyn-4-ol	-	-	-	-	-	-	0.22	-
<i>n</i> -octadecane	-	-	-	-	-	-	-	0.23

Tablo 4. 29. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin 30. gün belirlenen aroma bileşenleri

Uçucu Bileşen	Örnek							
	PG1	PG2	PG3	PG4	PG5	PG6	PG7	PG8
Myrcene	1.69	1.62	1.65	0.32	0.93	1.61	0.92	1.26
Limonen	82.02	81.44	83.13	74.92	77.80	80.34	79.82	80.08
θ-3-carene	0.55	0.49	0.47	-	-	0.44	-	0.22
Nonanol	0.93	1.09	1.32	2.21	2.02	1.58	1.58	1.58
Terpinolene	0.51	0.54	0.70	-	-	-	-	-
Linalol	0.90	0.72	0.91	1.21	1.10	1.23	0.94	1.08
Terpinene-4-ol	1.41	1.55	1.68	2.69	2.44	1.98	1.98	1.98
α-terpineol	4.70	5.05	4.51	9.17	7.30	6.55	6.97	6.76
1-decanol	0.52	0.45	0.41	0.59	0.50	0.46	0.48	0.47
2,4-hexadienal	0.23	-	-	0.45	-	-	-	-
α-copaene	0.26	0.36	0.35	0.48	0.36	0.31	0.32	0.31
β-caryophyllene	1.49	1.82	1.81	1.92	2.03	1.62	1.60	1.61
Linalyl butyrate	0.27	0.32	-	-	-	0.26	0.30	0.28
1,2-decanediol	0.30	0.57	0.82	0.53	0.30	0.26	-	0.13
θ-cadinene	0.70	0.97	0.61	1.19	0.97	0.67	0.69	0.68
Valencene	0.08	-	-	-	-	-	-	-
α-cubebene	0.16	-	-	-	0.39	0.16	-	0.08
Octyl asetat	0.27	0.24	-	-	-	-	-	-
Vitispirane	0.23	-	-	0.56	-	-	0.50	0.25
Nonyl asetat	0.16	0.18	-	-	-	-	-	-
γ-terpinene	-	0.52	-	-	-	-	-	-
β-terpinol	-	0.96	0.90	2.19	1.55	1.15	1.73	1.44
2,4-dimethylbenzaldehyt	-	0.27	-	0.58	0.38	0.40	0.56	0.48
Octahydro-2,5-dimetil-pentalene	-	0.29	-	-	-	-	-	-
Copaene	-	-	-	0.31	-	-	-	-
trans, trans-2,4-hexadienal	-	-	0.24	-	0.25	0.29	-	0.14
Torreyol	-	0.23	0.14	-	0.24	-	-	-
Pentadecane	-	0.16	-	-	-	-	-	-
α-cadinol	-	-	0.16	-	0.17	-	-	-
4-Methylcyclohexanol asetat	-	-	-	0.40	-	-	-	-
2,4-hexadienal 1	-	-	-	-	0.48	-	-	-
2-amino-3-metil-2-butenenitrile	-	-	-	-	0.34	0.22	-	0.11
n-hexadecane	-	-	-	-	0.28	-	0.17	0.09
1-dodecyn-4-ol	-	-	-	-	-	-	0.18	0.09
(E,E)- 2,4-hexadienal,	-	-	-	-	-	-	0.36	0.18
Metil 2-hydroxydecanoate	-	-	-	-	-	-	0.18	0.09

Tablo 4. 30. Probiyotik gilaburu suyu örneklerinin 60. gün belirlenen aroma bileşenleri

Uçucu Bileşen	Örnek							
	PG1	PG2	PG3	PG4	PG5	PG6	PG7	PG8
Myrcene	1.69	1.54	1.62	1.56	1.52	1.51	1.42	1.44
Limonen	84.54	80.94	83.54	82.64	80.86	81.39	78.78	77.04
θ-3-carene	0.51	0.49	0.48	-	-	-	-	-
Nonanol	0.81	1.11	1.03	0.99	0.92	1.32	1.04	1.93
Terpinolene	0.53	0.56	0.57	0.79	0.61	0.56	0.73	-
Linalol	0.62	0.95	0.66	0.63	0.68	0.73	0.67	1.27
Terpinene-4-ol	1.15	1.61	1.41	1.36	1.23	1.52	1.46	2.34
α-terpineol	4.13	5.56	4.10	4.98	3.68	5.24	5.62	7.11
1-decanol	0.29	0.53	0.38	0.44	0.40	0.38	0.51	0.60
α-copaene	0.31	0.30	0.41	0.35	0.40	0.34	0.33	0.42
β-caryophyllene	1.56	1.60	1.95	1.74	1.81	1.75	1.70	1.82
θ-cadinene	0.73	0.85	0.95	0.87	0.88	0.85	0.84	1.04
α-cubebene	0.13	0.23	0.14	0.15	0.13	0.14	0.15	0.22
γ-terpinene	0.48	-	-	0.48	0.47	-	-	-
β-terpineol	1.04	1.09	0.83	1.09	0.61	1.10	1.19	1.77
Octyl asetat	0.21	-	-	-	-	-	-	-
Linalyl butyrate	0.24	0.27	0.33	0.29	0.38	0.30	0.30	0.29
1,2-decanediol	0.25	0.35	0.19	-	-	0.25	0.33	0.28
Pentadecane	0.05	-	-	-	-	-	-	-
2,4-dimethylbenzaldehyt	-	0.41	-	0.32	0.24	0.34	0.53	0.92
Linalyl formate	-	-	-	-	-	-	0.43	-
Torreyol	-	-	-	-	-	-	-	0.17
4-methylcyclohexanol asetat	-	0.31	0.24	-	-	0.32	-	-
Bisabolene	-	0.29	-	-	-	-	-	-
n-hexadecane	-	0.34	-	-	0.24	-	-	-
Metil 2-hydroxydecanoate	-	0.13	-	-	-	-	-	-
n-tetradecane	-	0.09	-	-	-	-	-	0.09
2,4-hexadienal 1	-	-	0.30	-	0.26	-	-	0.42
Valencene	-	-	0.17	-	-	-	-	-
Vitispirane	-	-	-	0.32	0.23	-	0.34	-
n-eicosane	-	-	-	0.18	-	-	-	-
(E,E)- 2,4-hexadienal	-	-	-	0.21	-	-	-	-
α-guaiene	-	-	-	-	0.35	-	-	-
Oxime-, methoxy-fenil-	-	-	-	-	1.23	-	2.43	-
Ocimene	-	-	-	-	-	0.46	-	-
3,7-dimetil-1-oktanol	-	-	-	-	-	1.04	-	-

4.2.5. Probiyotik Gilaburu Örneklerinin Fenolik Asit ve Flavonoid Miktarları

Gilaburu örneklerinde fenolik asit ve flavonoid olarak 4 farklı bileşen (kateşin, kateşin türevi, kafeoylguinic asit ve klorojenik asit) belirlenmiş olup bunlar Tablo 4.31’ de verilmiştir. Bu bileşenler içerisinde major bileşenin klorojenik asit olduğu tespit edilmiştir. Klorojenik asit gilaburu örneklerinde yaklaşık 400 µg/ml düzeylerinde olduğu tespit edilmiştir. Kontrol örneğinde klorojenik asit miktarı 0. günde 452 µg/ml iken bu değer 15., 30. ve 60. gün sırasıyla 460, 445 ve 458 µg/ml olarak bulunmuştur. Bununla birlikte LAB ilave edilmiş gilaburu örneklerinde ise klorojenik asit miktarlarının kısmen az olduğu tespit edilmiştir. 0. Günde en düşük klorojenik asit miktarı 3 farklı LAB bakteri türünün olduğu PG8 örneğinde belirlenirken 60. gün sonunda ise en az klorojenik asit PG5 nolu örnekte saptanmıştır.

Klorojenik asit dışında diğer major fenolik bileşen ve/veya bileşenler kateşin ve kateşin türevi olduğu belirlenmiştir. Kateşin türevi, kateşinden daha fazla miktarda bulunmuştur. Kateşin türevi 0. gün yaklaşık 30 µg/ml olduğu ve depolama zamanı arttıkça azaldığı tespit edilmiştir. Kateşin ise depolamanın başlangıcında yaklaşık 25-27 µg/ml arasında iken depolamanın sonunda 22-26 arasında bulunmuştur. Bu bileşenler dışında tespit edilen diğer bir fenolik bileşen ise kafeoylguinic asit olmuştur. Bu bileşen miktar olarak diğer bileşenlerden daha az bulunmuştur. Bu bileşen miktarları depolama zamanlarında yaklaşık 5-7 µg/ml arasında olduğu tespit edilmiştir.

4.2.6. Probiyotik Gilaburu Örneklerinin Antosiyanin Miktarları

Giaburu örneklerinde antosiyanin bileşeni olarak sadece siyanidin 3-glikozit belirlenmiştir. Bu bileşenin miktarları Tablo 4.32’ de verilmiştir. Gilaburu örneklerinde siyanidin 3-glikozit yaklaşık 11-15 µg/ml olarak belirlenmiştir. Örneklerin siyanidin 3- glikozit miktarları depolama zamanı arttıkça azalma göstermiştir. 0. Gün 12.43-15.41 µg/ml iken 60. Gün sonunda 11.53-12.00 µg/ml arasında bulunmuştur. Tüm örneklerde siyanidin 3- glikozit miktarı benzer özellik göstermiştir.

Tablo 4. 31. Probiyotik gılaburu örneklerinin fenolik asit ve flavonoid miktarları (µg/ml)

Fenolik asit ve flavonoidler	PG1	PG2	PG3	PG4	PG5	PG6	PG7	PG8
	0. gün							
Kateşin türevi	31.2±1.7	32.3±0.2	33.2±0.5	32.7±0.1	32.9±0.4	32.1±1.0	32.0±0.2	30.7±2.2
Kateşin	25.8±2.7	27.6±0.7	26.8±0.8	26.4±1.6	26.8±0.5	26.9±0.3	26.5±1.6	25.7±0.8
Kafeoylguinic asit	7.6±0.5	6.8±0.1	6.9±0.0	6.7±0.0	6.7±0.0	6.7±0.1	6.9±0.1	6.8±0.1
Klorojenik asit	452.6±0.9	429.9±0.3	429.5±0.3	422.0±8.9	427.5±0.9	426.9±2.4	420.7±10.9	419.5±4.1
	15. gün							
Kateşin türevi	33.7±1.1	31.2±1.3	30.4±0.8	33.1±2.1	34.1±0.1	32.2±0.7	30.5±2.9	32.5±1.0
Kateşin	27.1±2.5	26.5±3.5	27.3±1.2	26.7±1.8	28.1±0.2	27.9±0.1	25.8±2.4	27.6±0.0
Kafeoylguinic asit	6.6±0.2	6.1±0.3	5.4±0.2	5.9±0.1	5.8±0.1	5.8±0.2	5.5±0.7	5.7±0.0
Klorojenik asit	460.3±0.9	437.0±1.0	410.3±19.9	425.3±10.4	433.4±0.2	424.4±3.7	410.1±32.6	434.4±1.8
	30. gün							
Kateşin türevi	29.2±0.4	27.8±2.7	28.8±1.7	27.7±0.1	29.0±0.8	29.7±0.1	28.2±0.6	29.4±0.5
Kateşin	27.0±0.7	19.6±1.6	20.4±0.4	19.6±1.2	20.9±0.9	27.3±0.5	26.0±1.6	26.8±0.7
Kafeoylguinic asit	6.4±0.3	6.1±0.4	6.2±0.1	5.9±0.1	6.2±0.5	6.8±1.8	5.9±0.1	6.1±0.1
Klorojenik asit	445.4±5.1	411.2±22.8	432.9±7.3	423.9±2.8	426.5±4.4	425.1±6.1	420.5±18.4	432.0±0.2
	60. gün							
Kateşin türevi	26.7±0.9	27.0±0.5	26.8±1.3	26.7±1.0	25.4±0.4	27.4±1.1	26.9±1.2	25.1±0.8
Kateşin	26.8±1.1	25.0±0.3	24.9±0.0	23.8±1.0	22.6±0.5	23.6±0.8	24.0±0.6	22.8±0.5
Kafeoylguinic asit	6.4±0.1	6.3±0.1	6.4±0.1	6.3±0.1	6.0±0.1	5.6±0.8	5.7±0.5	5.4±0.2
Klorojenik asit	458.0±1.4	436.3±2.2	434.0±0.7	422.2±1.7	407.4±6.4	420.4±7.6	419.2±0.8	415.5±9.5

Tablo 4. 32. Probiyotik gılaburu suyu örneklerinin antosiyanin miktarları (µg/g)

Örnek no	0. gün	15. gün	30. gün	60.gün
PG1	15.41±1.81	13.72±0.48	12.61±0.37	11.98±0.38
PG2	13.53±0.09	12.42±0.55	12.24±0.12	11.86±0.28
PG3	14.46±0.98	12.95±0.92	12.41±0.12	12.00±0.16
PG4	14.00±0.53	13.26±0.74	12.35±0.34	11.53±0.38
PG5	14.51±0.47	13.98±0.11	12.18±0.06	11.88±0.24
PG6	13.04±1.58	12.87±0.02	12.11±0.70	11.72±0.16
PG7	12.43±1.26	12.03±1.71	11.93±0.40	11.66±0.09
PG8	13.12±0.49	12.94±0.49	12.55±0.09	11.89±0.07

6. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu araştırma esas itibariyle 2 amaç çerçevesinde yürütülmüştür. Birinci amaç olarak geleneksel gilaburu fermentasyonunda rol oynayan LAB'nin moleküler tekniklerle tanımlanması, fonksiyonel ve probiyotik özelliklerinin belirlenmesi ile ikinci ve esas amaç olarak izole edilip tanımlanan ve probiyotik özellikleri yüksek olan LAB kullanarak probiyotik gilaburu suyu üretmektir.

Bu amaçla Kayseri'nin 10 farklı bölgesinden doğal olarak yetişen gilaburu meyveleri toplanmış ve laboratuarda kontrollü şartlarda fermente edilmiştir. Yine Kayseri'nin 10 farklı bölgesinden fermente edilmiş halde 10 adet gilaburu örneği toplanmıştır. Sonuçta toplam 20 adet fermente gilaburu örneği materyal olarak kullanılmıştır. Bu gilaburu örneklerinin fizikokimyasal, biyoaktivite, mikrobiyolojik, fenolik, flavonoid ve antosiyanin, aroma içerikleri ve duyuşal özellikleri belirlenmiştir. Daha sonra LAB izolatları elde edilmiş ve PCR ile genotipik olarak tanımlanmış ve tanımlanan izolatların fonksiyonel ve probiyotik özellikleri belirlenmiştir. Son aşamada ise probiyotik özellikleri iyi olan 3 farklı LAB türü (*Lb. plantarum* G19e, *Lb. brevis* G15a ve *Lb. casei* G20a) kullanılarak probiyotik gilaburu suyu üretilmiştir. Üretilen bu gilaburu sularının fizikokimyasal, biyoaktif, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri, fenolik, flavonoid, antosiyanin ve aroma içeriği tespit edilmiştir.

Piyasadan toplanan ve kontrolü şartlarda üretilen gilaburu suyunun protein, kül, ham selüloz ve yağ miktarlarının az olduğu, indirgen şeker değerlerinin ise yüksek olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin pH değerleri yaklaşık 3.0 civarında iken briks değerleri ise yaklaşık 9 düzeylerinde olduğu saptanmıştır. Geleneksel fermente gilaburu örneklerinin biyoaktivite özelliklerinin oldukça yüksek olduğu ve toplam fenolik madde miktarları yaklaşık 500 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 mL olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte fermentasyonla toplam fenolik madde miktarının arttığı tespit edilmiştir. Geleneksel fermente gilaburu suyu örneklerinin antiradikal aktivitelerinin taze gilaburu (fermentasyon öncesi) örneklerine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Hem kontrollü şartlarda hem de piyasadan toplanan gilaburu örneklerinin fizikokimyasal, biyoaktivite özelliklerinin birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. Geleneksel fermente gilaburu örneklerinin duyuşal olarak panelistlerce beğenildiği tespit edilmiştir. Örneklerin LAB sayılarının 3.92-8.44 log kob/ml arasında olduğu saptanırken, *S.aureus*, koliform grubu bakteriler, *E. coli* ve *Alicyclobacillus* sp.

belirlenememiştir. TMAB sayıları yaklaşık 6-7 log kob/ml düzeylerinde iken maya-küf sayıları yaklaşık 5-7 log kob/ml arasında bulunmuştur.

Örneklerde fenolik asit ve flavonoidler olarak 16 farklı bileşen (kateşin ve 7 kateşin türevi, klorojenik asit, quersetin ve 5 quersetin türevi ve kafeoylguinic asit) belirlenmiş olup major bileşenin klorojenik asit olduğu saptanmıştır. Örneklerin klorojenik asit miktarları 1600-2556 µg/ml arasında bulunmuştur. Bu bileşen dışında diğer major bileşenler olarak kateşin ve kateşin türevleri olmuştur. Yine örneklerde antosiyanin bileşenleri olarak sadece siyanidin glikozit bulunmuş olup bu bileşenin miktarının örnekler arasında oldukça değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Örneklerin siyanidin glikozit miktarları 12.8-207.8 µg/ml arasında bulunmuştur. Örnekler siyanidin glikozit miktarları arasındaki farklılığın, fermentasyonda bekleme süresi, meyvenin olgunluk düzeyi, yetiştirme şartları gibi bazı faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Geleneksel fermente gilaburu örneklerinin uçucu aroma bileşenleri GC-MS ile yapılmıştır. Bu analiz sonucunda toplam 160 tane uçucu aroma bileşeni tespit edilmiştir. Bu bileşenler oldukça değişkenlik göstermiş olup genel itibarıyla major bileşenlerin etil asetat, isovalerik asit, butirik asit, etil propiyonat, 2- oktanon, etil alkol ve 2-oktanol olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmanın ikinci aşamasında fermente gilaburu örneklerinde LAB olarak toplam 332 izolat elde edilmiş ve bu izolatların 12 farklı LAB türüne ve bu LAB içerisinde de çoğunluğunun *Lactobacillus* cinsine ait olduğu tespit edilmiştir. Bu LAB; *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. brevis*, *Leu. mesenteroides*, *Lb. hordei*, *Lb. paraplantarum*, *Lb. coryniformis*, *Lb. buchneri*, *Lb. parabuchneri*, *Lb. pantheris*, *Leu. pseudomesenteroides* ve *Lb. harbinensis*’ dir. Bu izolatlar içerisinde de major LAB; *Lb. plantarum* (173 izolat) iken bunu *Lb. casei* (52 izolat) ve *Lb. brevis* (24 izolat) takip etmiştir. Yine *Lb. plantarum* 15 farklı gilaburu suyu örneğinde, *Lb. casei* 5, *Lb. brevis* ve *Lb. hordei* ise 3 örnekte saptanmıştır.

Tanımlanan LAB izolatlarının probiyotik ve fonksiyonel özelliklerini test etmek için her bir gilaburu örneğinden en fazla bulunan ve yüksek dilüsyonlarda olan 2’şer adet LAB izolatı seçilip toplam 40 adet izolatta teknolojik ve fonksiyonel özellikleri belirleyen testler uygulanmıştır. Test edilen bu izolatlardan 7 tanesi glikozdan gaz oluştururken 4 tanesi arjininden amonyak üretmiştir. 15°C’ tümü gelişirken 45°C’de sadece iki izolat gelişmiştir.

Test edilen izolatların hidrojen sülfür üretme özellikleri yokken % 01, 0.3, 0.5 ve 1 safra tuzuna karşı dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Saffra tuzunda gelişme özelliği LAB probiyotik özellik kazandırdığı düşünülen testlerden birisi olarak kabul edilmektedir. Yine pH 2.5 ve 3.5’ da bazılarının gelişirken bazılarının gelişemediği tespit edilmiştir. İzolatlar %2 ve 4 tuz konsantrasyonlarına dayanıklı iken 3 örnek dışında asit üretme yeteneklerinin iyi olduğu saptanmıştır. Test edilen izolatların kanamycin, streptomycin ve vancomycin antibiyotiklerine karşı oldukça dirençli olduğu tespit edilmiş olup diğer antibiyotiklere (ampicillin, chloramphenicol, penicillin, erythromycin ve tetracycline hydrochloride) karşı oldukça değişken bir duyarlılık göstermiştir. İzolatların tannaz aktivitesi ve bakteriyosin üretme yetenekleri belirlenememiştir. Bazı izolatlar hidrojen peroksit üretirken, bazıları üretmemiştir. İzolatlardan 9’u L(+), 3’ü D(-) ve 28’i ise DL özelliği göstermiştir. Yine izolatların tutunma özellikleri %0.1-87 arasında oldukça değişkenlik göstermiştir. En fazla tutunma özelliğine sahip izolatların G15a, G19e ve G20a olduğu görülmüştür. Bu bakteriler ise *Lb. plantarum*, *Lb. casei* ve *Lb. brevis* türlerine ait suşlardır. LAB izolatlarının *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* ve *Yersinia enterocolitica* patojen bakterilerine karşı oldukça yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Probiyotik gilaburu suyunda kullanılan izolatların dondurarak kurutmaya dayanıklılığını test edilmiş ve bunun için liyofilizasyon öncesi ve sonrası bir de 75. gün farklı sıcaklıklarda (25, 4 ve - 20°C) depolama sonrası olmak üzere sayımlar yapılmıştır. Bu sayımlar sonucunda *Lb. plantarum*’un diğerlerine göre daha dirençli olduğu ve bunu *Lb. casei* ve *Lb. brevis* ’in takip ettiği saptanmıştır.

Probiyotik gilaburu suyu üretmek için, probiyotik özelliği yüksek olan 3 farklı LAB seçilmiştir. Projeyi destekleyen firmanın ürettiği pastörize gilaburu sularına bu bakteriler yöntem kısmında açıklandığı şekilde aşılınarak, bu izolatlarla üretilen gilaburu sularının fizikokimyasal özellikleri karşılaştırılmıştır. Bu özellikler bakımında örneklerin birbirinden farklı olmadığı tespit edilmiştir. Üretilen bu gilaburu örneklerinin briks değerleri 2.7-3.5 arasında değişmiştir. Örneklerin pH değerlerinde depolama süreleri içinde azalma ve artmalar meydana gelmiştir. % Asitlik değerleri ise depolama süresince artış göstermiştir.

Depolama süresi arttıkça probiyotik gilaburu suyu örneklerinin biyoaktivite değerlerinin kısmen azaldığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte LAB içermeyen pastörize kontrol örneklerinde askorbik asit, toplam fenolik miktarı ve antioksidan aktivite değerlerinin daha yüksek olduğu gözlenmiş olup, probiyotik bakterilerin bulunduğu örneklerde muhtemelen

inoküle edilen bakterilerin kısmi olarak azalmaya neden olduğu söylenebilir. Probiyotik gilaburu suları eğitimli panelistler tarafından renk, koku, tat ve genel beğeni açısından değerlendirilmiş olup, değerlendirme sonunda probiyotik LAB ilave edilmiş örneklerin daha fazla beğenildiği belirlenmiştir. Örneklerde mikrobiyolojik olarak TMAB, LAB ve *Alicyclobacillus* spp. analizleri yapılmış ve depolama süresi arttıkça probiyotik LAB sayılarının azaldığı tespit edilmiştir. Probiyotik LAB sayısı, depolamanın başlangıcında yaklaşık 8 log kob/ml iken, 60. gün sonunda 3.5-4.6 log kob/ml arasında kalmıştır. TMAB sayısı da LAB sayısına benzer durumdadır. Bununla birlikte gilaburu suyunda *Alicyclobacillus* spp. tespit edilememiştir.

Probiyotik gilaburu örneklerinin aroma analizleri açısından değerlendirildiğinde major uçucu aroma bileşeninin limonen (yaklaşık %70-90 arasında) olduğu belirlenmiştir. Bunun dışında diğer major bileşenlerin α -terpineol, myrcene, terpinene-4-ol ve β -caryophyllene olduğu saptanmıştır. Örneklerin fenolik asit, flavonoid ve antosiyanin bileşenleri analiz edilmiş olup fenolik asit ve flavonoidlerden; kateşin, kateşin türevi, kafeoylguinic asit ve klorojenik asit belirlenmiştir. Burada major bileşenin klorojenik asit olduğu bu bileşenin miktarının yaklaşık 400 μ g/ml düzeylerinde olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte en az olan bileşenin ise kafeoylguinic asit olduğu belirlenmiştir. Yine probiyotik gilaburu örneklerinde antosiyanin olarak siyanidin glikozit bulunmuştur. Bu antosiyanin bileşiğinin miktarı oldukça düşük düzeylerde dir.

6.1. Çalışma Sonucunda Aşağıdaki Öneriler Yapılabilir:

1. Bu çalışma ile geleneksel olarak tüketilen gilaburu sularının LAB mikroflorası PCR kullanılarak moleküler tanı yöntemleriyle belirlenmiştir. Aynı zamanda bu çalışma ile tanımlanan LAB izolatlarının teknolojik ve fonksiyonel özellikleri de saptanmıştır. İzole edilen tüm LAB'nin enzim üretimleri, bakteriyosin üretimleri ve diğer bazı özelliklerinin duruma göre ayrıntılı olarak çalışılması gerekmektedir.
2. İzole edilen bakterilerle yeni bir ürün olarak, fermente gilaburu suyu standardize edilmiş ve endüstriyel probiyotik fermente gilaburu suyu üretilmiştir. Böylece gilaburu suyu tüketicilerine yeni fonksiyonel ürün kazandırılmıştır.
3. Projemizde üretilen probiyotik gilaburu suyu üretiminin endüstriyel boyutlu üretimi için daha ayrıntılı çalışmaların yapılması, yeni bir çalışma konusudur.

4. Proje ile fermente gilaburu suyu üretimi için de starter kültür geliştirilmiştir. Bu izolatların diğer izolatlarla değiştirilerek, gilaburu suyunda denenmesi ve etkilerinin araştırılması yeni bir araştırma olarak önerilebilir.
5. Sonraki çalışmalarda, gilaburu fermentasyonunda LAB dışında bulunması muhtemel maya ve asetik asit bakterileri de tanımlanarak, LAB ile bunlar arasında meydana gelen sinerjist ve/veya antagonistik etkilerin de belirlenmesi önerilebilir.
6. Projemizde üretilen gilaburu sularında, depolama süresinin sonlarında, probiyotik LAB'nin sayılarının 10^6 kob/ml'nin altına düştüğü gözlenmiştir. Probiyotik gilaburu üretiminde probiyotik LAB daha uzun süre ve yüksek sayılarda canlı kalabilmesi için modifikasyonlar yapılarak insanların tüketimine uygun fonksiyonel bir gıda ürünü ortaya çıkarılmalıdır. Bunun içinde izolatlar, gilaburuna ilave edilmeden önce enkapsüle edilerek, gilaburu suyunu hem duysal yönden olumsuz olmayacak hem de yüksek sayılarda ve uzun süre kalabilecek bir hale getirmek mümkün olabilecektir.
7. Son olarak gilaburu suyu üretimi yapan firmalarla Ar-Ge faaliyetlerinin artırılarak geleneksel ürünlerimizin sanayiye kazandırılması hızlandırılmalıdır.

6. REFERANSLAR

- AKBULUT, M., Calisir, S., Marakoglu, T., Coklar, H., Chemical and technological properties of European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruits, Asian Journal of Chemistry, 20 (3), 1875-1885, (2008).
- ALTUN, M.L., Saltan Çitoğlu, G., Sever Yılmaz, B., Çoban, T., Antioxidant properties of *Viburnum opulus* and *Viburnum lantana* growing in Turkey, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 59 (3), 175-180, (2008).
- ALTUN, M.L., Sever Yılmaz, B., HPLC method for the analysis of salicin and chlorogenic acid from *Viburnum opulus* and *V. lantana*, Chemistry of Natural Compounds, 43 (2), (2007).
- ALTUN, M.L., Saltan Çitoğlu, G., Sever Yılmaz, B., Özbek, H., Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Viburnum opulus*, Pharmaceutical Biology, 47 (7), 653-658, (2009).
- ALTUN, M.L., Özbek, H., Saltan Çitoğlu, G.S., Sever Yılmaz, B., Bayram, İ., Cengiz N., Hepatoprotective and hypoglycemic activities of *Viburnum opulus* L., Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences, 7 (1), 35-48, (2010).
- ANDREEVA, T.I., Komarova, E.N., Yusubov, M.S., Korotkova, E.I., Antioxidant activity of cranberry tree (*Viburnum opulus* L.) bark extract, Pharmaceutical Chemistry Journal, 38 (10), 548-550, (2004).
- ANONİM, TS 4890, Meyve ve Sebze Mamulleri-Çözünür Katı Madde Miktarı Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, (1986a).
- ANONİM, TS 4966, Gıda Mamullerinde Ham Selüloz Miktarının Tayini-Değiştirilmiş Scharrer Metodu, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, (1986b).
- ANONİM, TS 6397 Meyve, Sebze ve Mamulleri-Askorbik Asit Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, (1989a).
- ANONİM, TS 3792, Üzüm Pekmezi, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, (1989b).
- ANONİM, TS 1466, Domates Salçası, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, (1992).

- ANONİM, TS 4717 ISO 5983, Hayvan Yemleri-Azot Muhtevasının Tayini ve Ham Protein Muhtevasının Hesaplanması-Kjeldahl Metodu, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, (1999).
- ANONİM, TS 1594 ISO 2448, Meyve ve Sebze Ürünleri-Etanol Muhtevası Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, (2001a).
- ANONİM, TS 1728 ISO 1842, Meyve ve Sebze Ürünleri-pH Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, (2001b).
- ANONİM, Aerobic Plate Count, FDA Bacteriological Analytical Manual, Chapter 3, (2001c).
- ANONİM, *Staphylococcus aureus*, FDA Bacteriological Analytical Manual, Chapter 12, (2001d).
- ANONİM, Yeasts, Molds and Mycotoxins, FDA Bacteriological Analytical Manual, Chapter 18, (2001e).
- ANONİM, TS 1125 ISO 750. Meyve ve Sebze Ürünleri-Titrasyon Asitliği Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, (2002a).
- ANONİM, Enumeration of *E. coli* and the Coliform Bacteria, FDA Bacteriological Analytical Manual, Chapter 4, (2002b).
- ANONİM, Velp Scientifica SER 148 Manual, Randall Techniques, (2004).
- ANONİM, Highbush-Cranberry, *Viburnum opulus* L. var. *americanum* Ait, USDA, NRCS, National Plant Data Center, <http://Plant-Materials nracs.usda.gov>, (2003).
- ANONİM, *Viburnum opulus*-European Cranberrybush, University of Arkansas Horticulture 3103 summary sheet. http://www.uark.edu/campus-resources/cotinus/plants3_html/vibuopul.html, (2008).
- ANONİM, <http://www.missouribotanicalgarden.org/gardens-gardening/your-garden/plant-finder/plant-details/kc/c365/viburnum-opulus-var.-americanum.aspx>, (2013a).
- ANONİM, University of Arkansas Horticulture 3103 Summary Sheet, http://www.uark.edu/campus-resources/cotinus/plants3_html/vibuopul.html, (2013b).
- ANONİM, <http://www.pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Viburnum+opulus>, (2013c).
- ANONİM, http://www.agroatlas.ru/en/content/cultural/Viburnum_opulus_K/, (2013d).
- ANONİM, <http://plantfacts.osu.edu/pdf/0247-1153.pdf>, (2013e).

- ANONİM, http://plants.usda.gov/plantguide/pdf/cs_viopa2.pdf, (2013f).
- ARICI, M., Bilgin, B., Sagdic, O., Ozdemir, C. Some characteristics of *Lactobacillus* isolates from infant faeces. Food Microbiology, 21 (1), 19-24, (2004).
- BOEHRINGER-MANNHEIM., UV—Method for the determination of L-lactic acid nad D-lactic acid in foodstuffs and other materials. In: Methods of Biochemical Analysis Using Single Reagents, Boehringer-Mannheim GmbH, pp. 78–81; Biochemica, Mannheim, (1989).
- BOLAT, S., Özcan, M., Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) meyvesinin morfolojik, fenolojik ve pomolojik özellikleri ile kimyasal bileşimi. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Çukurova Ün. Ziraat Fak. Yay. Cilt 1, 772-775, Adana, (1995).
- CAM, M., Hisil, Y., Kuscü, A., Organic acid, phenolic content, and antioxidant capacity of fruit flesh and seed of *Viburnum opulus*, Chemistry of Natural Compounds, 43 (4), 460-461, (2007).
- ÇAM, M., Kayseri Bölgesi’nde Tüketilen Gilaburu (*Viburnum opulus*) Meyve Suyunun Organik Asit ve Fenolik Bileşiklerinin Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC) İle Belirlenmesi, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Kayseri, (2005).
- ÇAM, M., Basınçlı Solvent Ekstraktörü Kullanılarak Nar Kabuğu ve Çekirdeğinin Antioksidan Bileşiklerin Su ile Ekstraksiyonu, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, (2009).
- ČESONIENĖ, L., Daubaras, R., Viškelis, P., Šarkinas, A., Determination of the total phenolic and anthocyanin contents and antimicrobial activity of *Viburnum opulus* fruit juice, Plant Foods for Human Nutrition, 67, 256–261, (2012).
- ČESONIENĖ, L., Daubaras, R., Vencloviienė, J., Viškelis, P., Biochemical and agrobiological diversity of *Viburnum opulus* genotypes, Central European Journal of Biology, 5 (6), 864-871, (2010).
- CHIRIGIU, L., Bubulica, M.V., Averis, L.M.E., Investigations of Three Phytopharmaceutical Products from Caprifoliaceae Family Using GC-MS and LC-MS, Revista de Chimie Bucharest, 63 (8), 463-464, (2012).

- DEINEKA, V.I., Sorokopudov, V.N., Deineka, L.A., Shaposhnik, E.I., Koltsov, S.V., Anthocyanins from fruit of some plants of the Caprifoliaceae family, *Chemistry of Natural Compounds*, 41 (2), (2005).
- DE MAN, J.C., Rogosa, M., Sharpe, M.E., A medium for the cultivation of lactobacilli, *Journal of Applied Bacteriology*, 23, 130-135, (1960).
- ELMASTAŞ, M., Gerçekçioğlu, R., Bazı üzüksü meyve türlerinin antioksidan aktiviteleri, II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Tokat, 295-298, 14-16 Eylül, (2006).
- FULEKI, T., Francis, F.J., Quantitative methods for anthocyanins 2. determination of total anthocyanins and degradation index for cranberry juice, *Journal of Food Science*, 50, 754-756, (1968).
- GRIBOVA, N.Y., Filippenko, T.A., Nikolaevskii, A.N., Belaya, N.I., Tsybulenko, A.A., Optimization of conditions for the extraction of antioxidants from solid parts of medicinal plants, *Journal of Analytical Chemistry*, 63 (11), 1034–1037, (2008).
- KARIMOVA, A.R., Yunusova, S.G., Maslennikov, S.I., Galkin, E.G., Yunusov, T.S., Shereshovets, V.V., Yunusov, M.S., Lipids, lipophilic components and biologically active fraction of *Viburnum opulus* L. seeds, *Chemistry of Natural Compounds*, 36 (6), 560-564, (2000).
- KARIMOVA, A.R., Yunusova, S.G., Galkin, E.G., Fedorov, N.I., Yunusov, M.S., Lipids and lipophilic components of *Viburnum opulus* fruits during maturation, *Russian Chemical Bulletin, International Edition*, 53 (1), 245-250, (2004).
- KESMEN, Z., Yetiman, A. E., Gulluce, A., Kacmaz, N., Sagdic, O., Cetin, B., Adiguzel, A., Sahin, F., Yetim, H., Combination of culture-dependent and culture-independent molecular methods for the determination of lactic microbiota in sucuk. *International Journal of Food Microbiology*, 153(3), 428-435, (2012).
- KOS, B., Suskovic, J., Beganovic, J., Gjuracic, K., Frece, J., Iannaccone, C., Canganella, F., Characterization of the three selected probiotic strains for the application in food industry, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 699–707, (2008).
- KRAUJALYTE, V., Leitner, E., Venskutonis, P.R., Chemical and sensory characterisation of aroma of *Viburnum opulus* fruits by solid phase microextraction-gas chromatography–olfactometry, *Food Chemistry*, 132, 717–723, (2012).

- KWON, T., Shim, S., Lee, J-H., Characterization of lactobacilli with tannase activity isolated from kimchi, *Food Science and Biotechnology*, 17 (6), 1322-1326, (2008).
- LEE, S.K., Mbwambo, Z.H., Chung, H.S., Luyengi, L., Games, E.J.C., Mehta, R.G., Kinghorn, A.D., Pezzuto, J.M., Evaluation of the antioxidant potential of natural products, *Combin. Chem. High Throughput Screen*, 1, 35–46, (1998).
- MACHIELS, D., Istasse, L., Evaluation of two commercial solid-phase microextraction fibres for the analysis of target aroma compounds in cooked beef meat, *Talanta*, 61, 529-537, (2003).
- MOLDOVAN, B., Ghic, O., David, L., Chisbora, C., The influence of storage on the total phenols content and antioxidant activity of the cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruits extract, *Revista de Chimie-Bucharest*, 63 (5), 463-464, (2012a).
- MOLDOVAN, B., David, L., Chisbora, C., Cimpoi, C., Degradation kinetics of anthocyanins from European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit extracts. Effects of Temperature, pH and Storage Solvent, *Molecules*, 17, 11655-11666, (2012b).
- ÖZER, E., Kalyoncu, İ.H., Gilaburu (*Viburnum Opulus* L.)'nun yeşil çelikle çoğaltma imkanlarının araştırılması, *Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21 (43), 46-52, (2007).
- ÖZRENK, K., Gündoğdu, M., Keskin, N., Kaya, T., Some physical and chemical characteristics of gilaburu (*Viburnum opulus* L.) fruits in Erzincan region, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1 (4), 9-14, (2011).
- PAL, M., Singh, V., Agrawal, J., Tewari, S.K. and Zhao, Q.S., Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Viburnum betulifolium*, *Journal of Medical Sciences*, 13 (1), 72-75, (2013).
- PRIETO, P., Pineda, M., Aguilar, M., Spectrofotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E, *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341, (1999).
- ROP, O., Reznicek, V., Valsikova, M., Jurikova, T., Mlcek, J., Kramarova, D., Antioxidant properties of European cranberrybush fruit (*Viburnum opulus* var. *edule*), *Molecules*, 15, 4467-4477, (2010).

- SAGDIC, O., Aksoy, A., Ozkan, G., Evaluation of the antibacterial and antioxidant potentials of cranberry (*Gilaburu*, *Viburnum opulus* L.) fruit extract, *Acta Alimentaria*, 35 (4), 487-492, (2006).
- SAGDIC, O., Arici M., Simşek O., Selection of starters for a traditional Turkish yayik butter made from yoghurt, *Food Microbiology*, 19 (4), 303-312, (2002).
- SAS. SAS/STAT User's Guide (Version 8.2), SAS Institute Inc., Cary, NC (2000).
- SEVER YILMAZ, B., Saltan Çitoğlu, G., Altun, M.L., Özbek, H., Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Viburnum lantana*, *Pharmaceutical Biology*, 45 (3), 241-245, (2007).
- SKREDE, G., Wrolstad, R.E., Durst, R.W., Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.), *Journal of Food Science*, 65, 357-64, (2000).
- SINGLETON, V.L., Rossi J.A., Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158, (1965).
- SOYLAK, M., Elci, L., Saracoglu, S., Divrikli, U., Chemical analysis of fruit juice of European cranberrybush (*Viburnum opulus*) from Kayseri-Turkey, *Asian Journal of Chemistry*, 14 (1), 135-138, 2002.
- TOKSOY, A., *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus pentosaceus* suşlarının metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (1996).
- TUREK, S., Cisowski, W., Free and chemically bonded phenolic acids in barks of *Viburnum opulus* L. and *Sambucus nigra* L., *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 64 (4), 377-383, (2007).
- TURKER, A.U., Yıldırım, A.B., Karakaş, F.P., Antibacterial and antitumor activities of some wild fruits grown in Turkey, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 26 (1), 2765-2772, (2012).
- VINDEROLA, C.G., Reinheimer, J.A., Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative "in vitro" study of probiotic characteristics and biological barrier resistance, *Food Research International*, 36, 895-904, (2003).

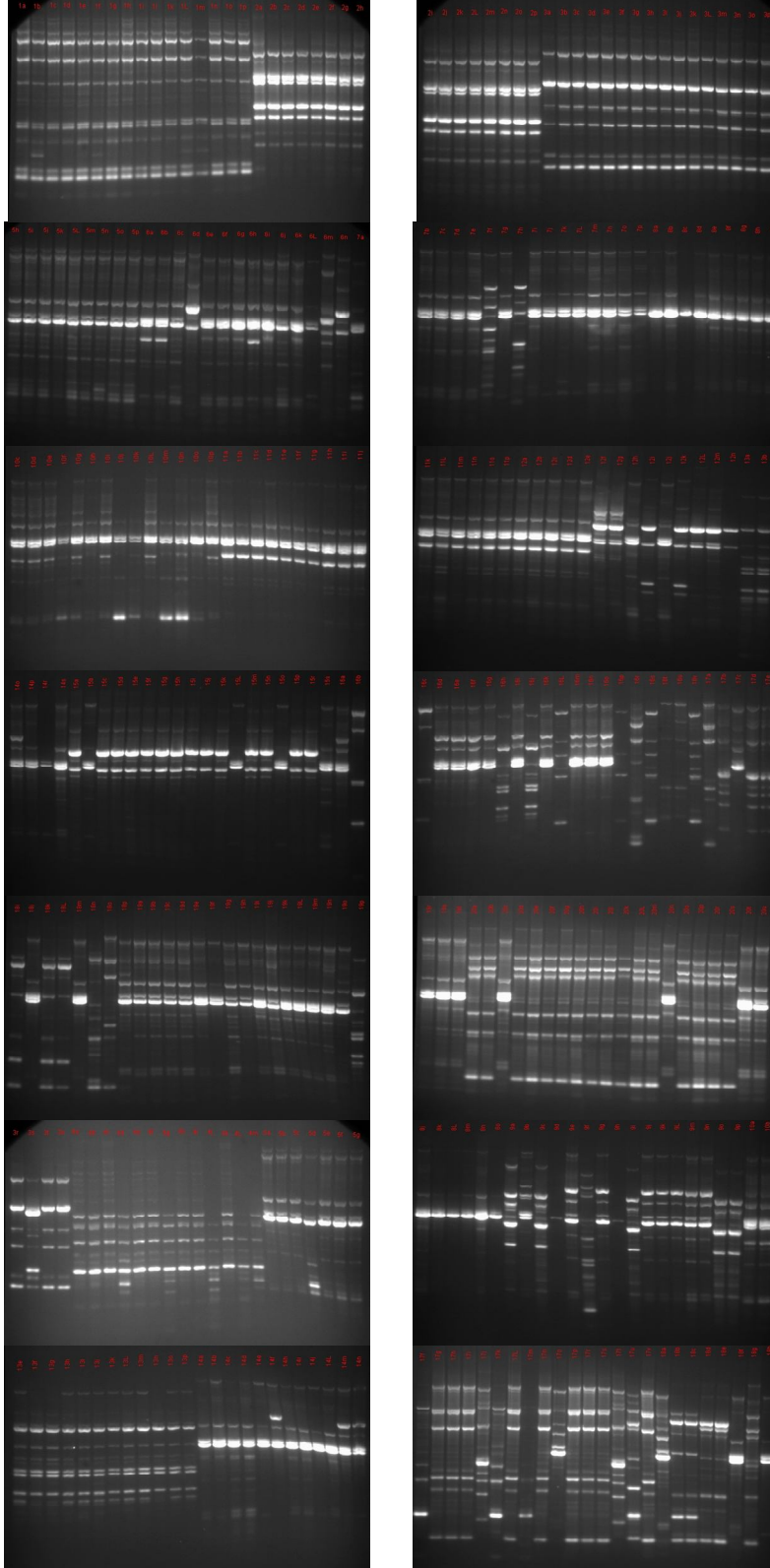
- WISSE, C.A., Parish M.E., Isolation and enumeration of sporeforming, thermoacidophilic, rod-shaped bacteria from citrus processing environments, *Dairy Food and Environ. Sanitation*, 18, 504- 509, (1998).
- WROLSTAD, R.E., *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons Inc. (2000).
- YANG, B., Ahotupa, M., Määttä, P., Kallio, H., Composition and antioxidative activities of supercritical CO₂-extracted oils from seeds and soft parts of northern berries, *Food Research International*, 44, 2009–2017, (2011).
- ZAYACHKIVSKA, O.S., Gzhegotsky, M.R., Terletska, O.I., Lutsyk, D.A., Yaschenko, A.M., Dzhura, O.R., Influence of *Viburnum opulus* proanthocyanidins on stress-induced gastrointestinal mucosal damage, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 57 (5), 155-167, (2006).

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

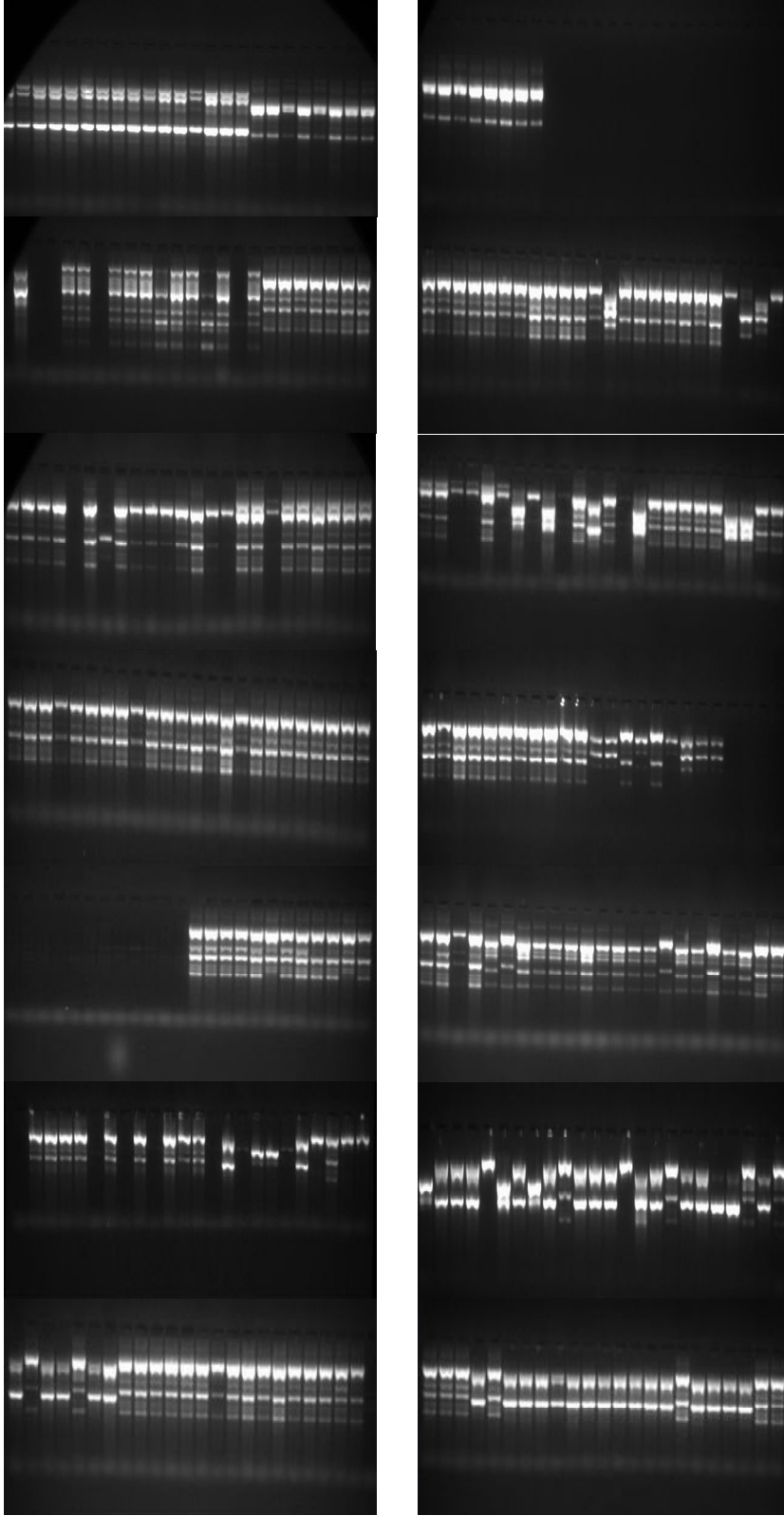
Proje No: 110O214
Proje Başlığı: Geleneksel Fermente Gilaburu (<i>Viburnum opulus</i> L.) Meyve Suyundan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özellikleri ve Endüstriyel Üretimde Kullanımları
Proje Yürütücüsü ve Araştırmacılar: Yürütücü: Doç.Dr. Osman SAĞDIÇ, Araştırmacılar: Prof. Dr. Hasan YETİM, Prof. Dr. Mehmet HAYTA, Doç.Dr. Kemal SARIOĞLU, Nurdan YAPAR, Danışman: Doç. Dr. Zülal KESMEN
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 34210, Davutpaşa Kampüsü, Esenler-İstanbul
Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: GÜLSAN GIDA SANAYİ VE TİC. A.Ş., Kayseri
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 01.11.2010-01.05.2013
Öz Bu çalışmanın gilaburu örneklerinden, genotipik yöntemlerle 12 farklı LAB türüne ait toplam 332 izolat PCR kullanılarak moleküler tanı yöntemleriyle tanımlanmış ve bu izolatlardan major LAB 'nin; <i>Lb. plantarum</i> (173 izolat), <i>Lb. casei</i> (52 izolat) ve <i>Lb. brevis</i> (24 izolat) olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlardan teknolojik ve probiyotik özelliği iyi olan <i>Lb. plantarum</i> G19e, <i>Lb. brevis</i> G15a ve <i>Lb. casei</i> G20a seçilerek teknolojik probiyotik gilaburu suyu üretiminde kullanılmıştır. Probiyotik gilaburu suyu örnekleri duyuşal olarak daha fazla beğenilmiş, major uçucu aroma bileşeninin limonen olduğu, major fenolik bileşenin klorojenik asit olduğu ve antosiyanin olarak siyanidin glikozit bulunduğu tespit edilmiştir. Bu proje sonucunda elde edilen gilaburu suyuna has LAB izolatlarının; probiyotik gilaburu suyu üretiminde, geleneksel ürünü standardize ederek tüketime uygun standart gilaburu suyunun modern teknoloji ile üretiminde ve fonksiyonelliği artmış bir probiyotik meyve suyunun eldesinde kullanılabileceği belirlenmiştir.
Anahtar Kelimeler: Gilaburu, <i>Viburnum opulus</i> L., PCR ile laktik asit bakterilerinin tanımlanması,, fermentasyon, probiyotik özellikler, probiyotik gilaburu suyu üretimi.
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu mu? Evet ☒ Gerekli Değil ☐ Fikri Ürün Bildirim Formu'nun tesliminden sonra 3 ay içerisinde patent başvurusu yapılmalıdır.
Projeden Yapılan Yayınlar: 1. Sagdic, O., Ozturk, I., Yapar, N., Tastemur, B., Yetim, H., Microbiological characteristics of traditionally Turkish fermented European cranberrybush (<i>Viburnum opulus</i> L.) fruits. BioMicroWorld, 2011, Spain. 2. Sagdic, O., Yapar, N., Ozturk, I., Tastemur, B., Fermentasyonla gilaburunun biyoaktif özelliklerindeki değişim. Türkiye 11. Gıda Kongresi, Poster No: P432, Sayfa No: 369, 10-12 Ekim, Hatay, 2012.
Ekte Bulunan "ARDEB Başarı Öyküsü Formu", "Kazanımlar" Bölümünde Belirtilen Kriterlere Göre Proje Çıktılarınızın Başarı Öyküsü Niteliği Taşıdığını Düşünüyorsanız "ARDEB Başarı Öyküsü Formu"nu doldurunuz.

EKLER

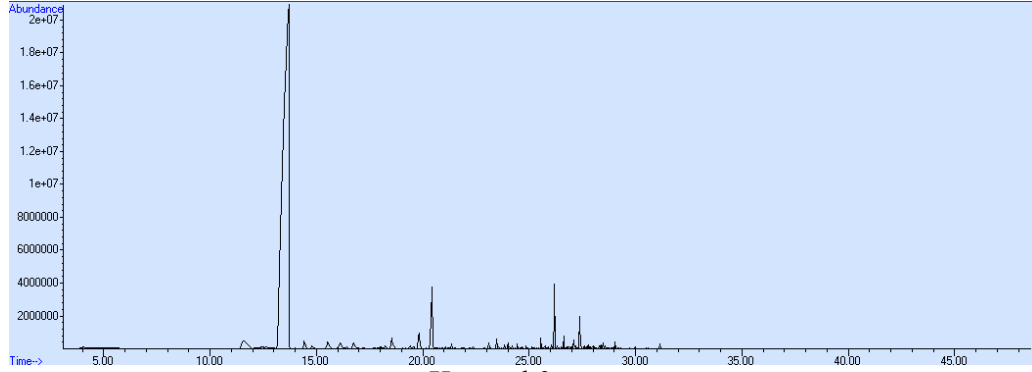
Ek-1. LAB izolatlarının rep-PCR Jel Görüntüleri



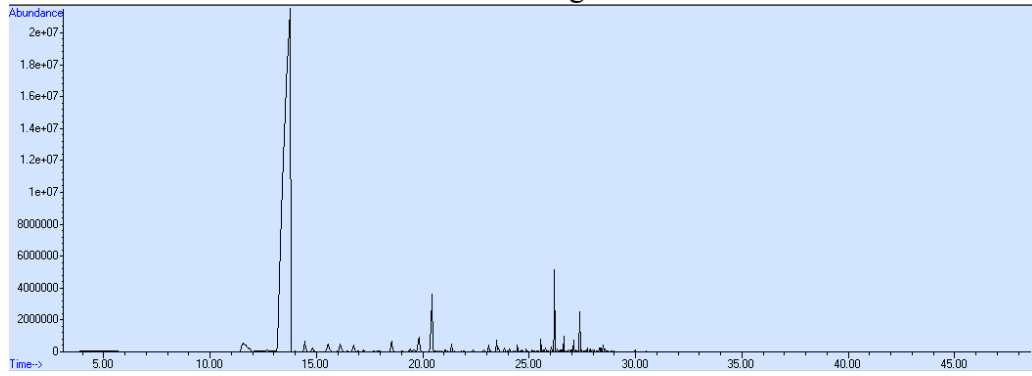
Ek-2. LAB izolatlarının BOX-PCR Jel Görüntüleri



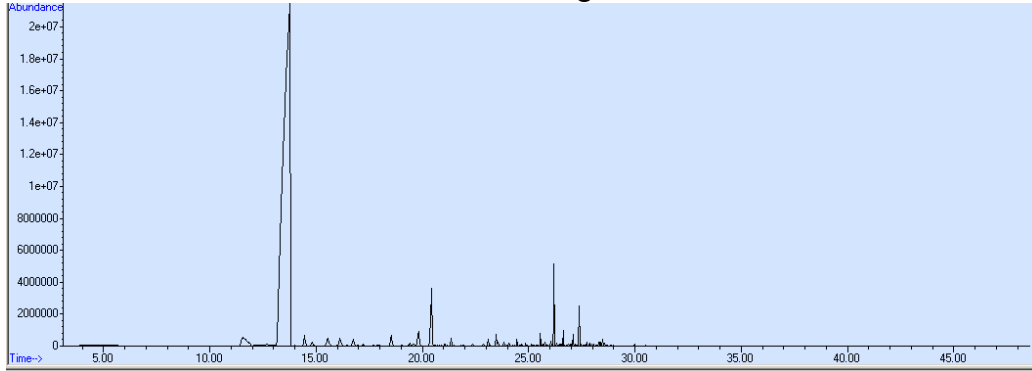
Ek-3. Probiyotik gilaburu suyu örneklerine ait GC-MS kromotogramları



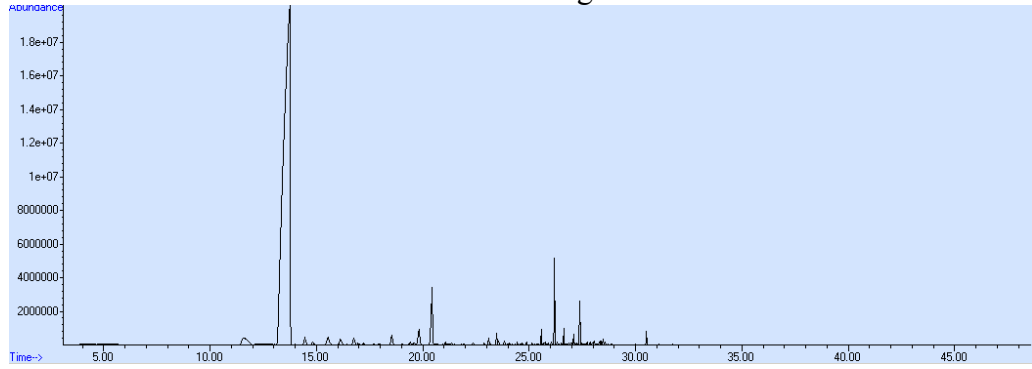
Kontrol 0. gün



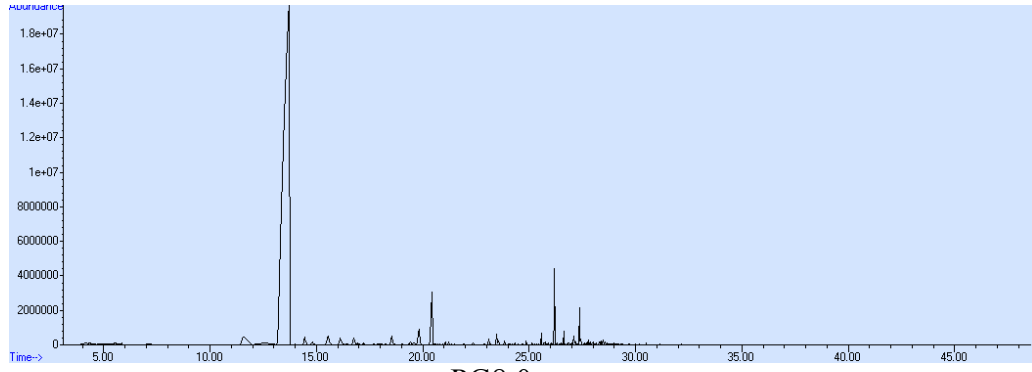
Kontrol 15. gün



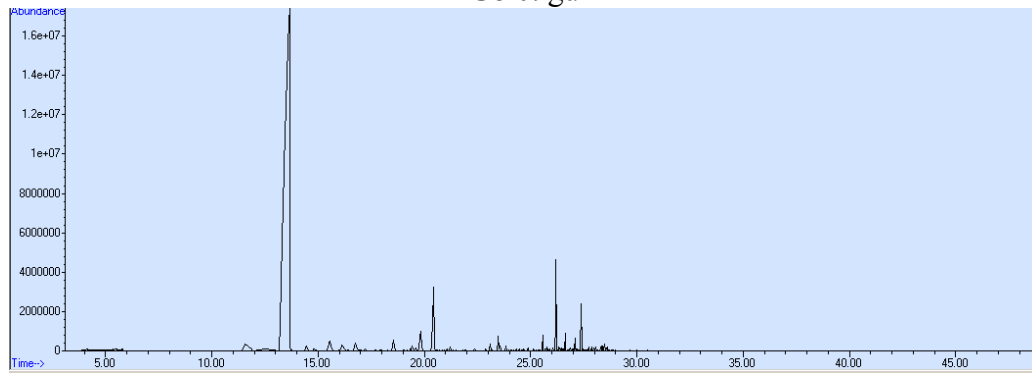
Kontrol 30. gün



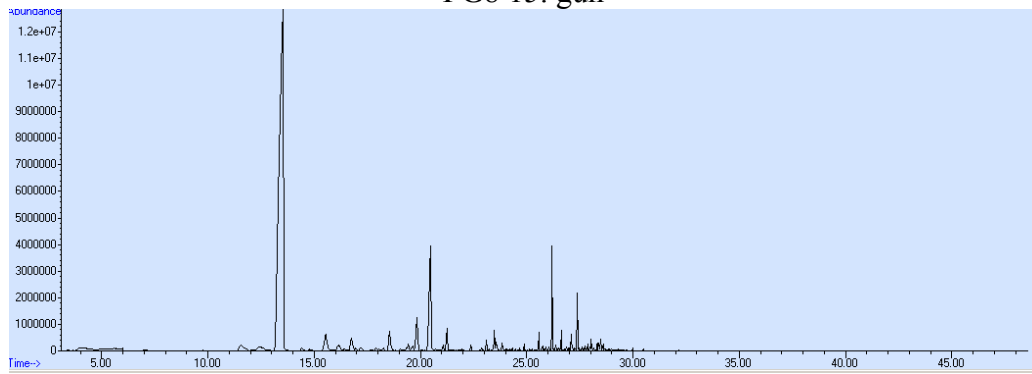
Kontrol 60. gün



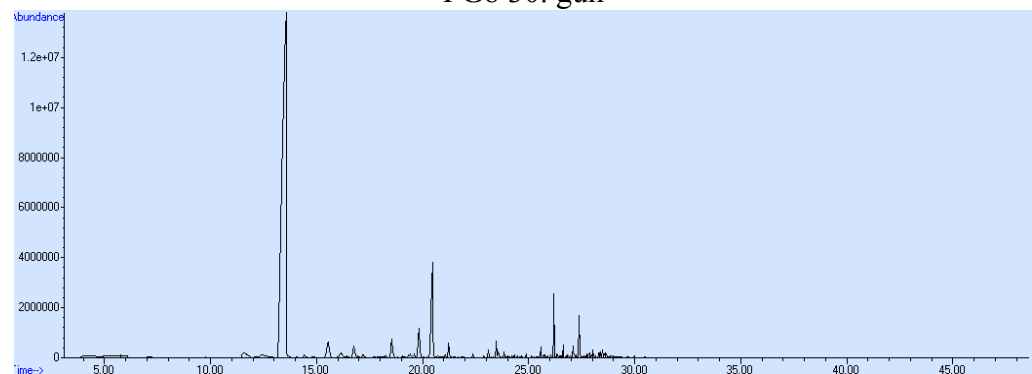
PG8 0. gün



PG8 15. gün

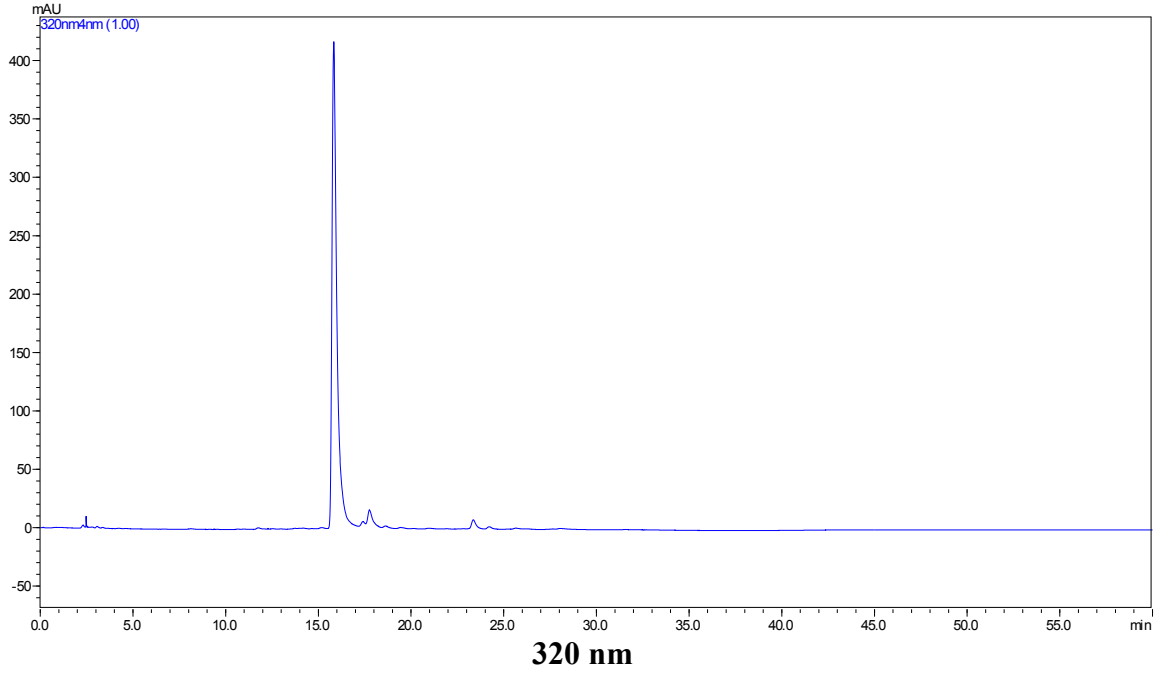
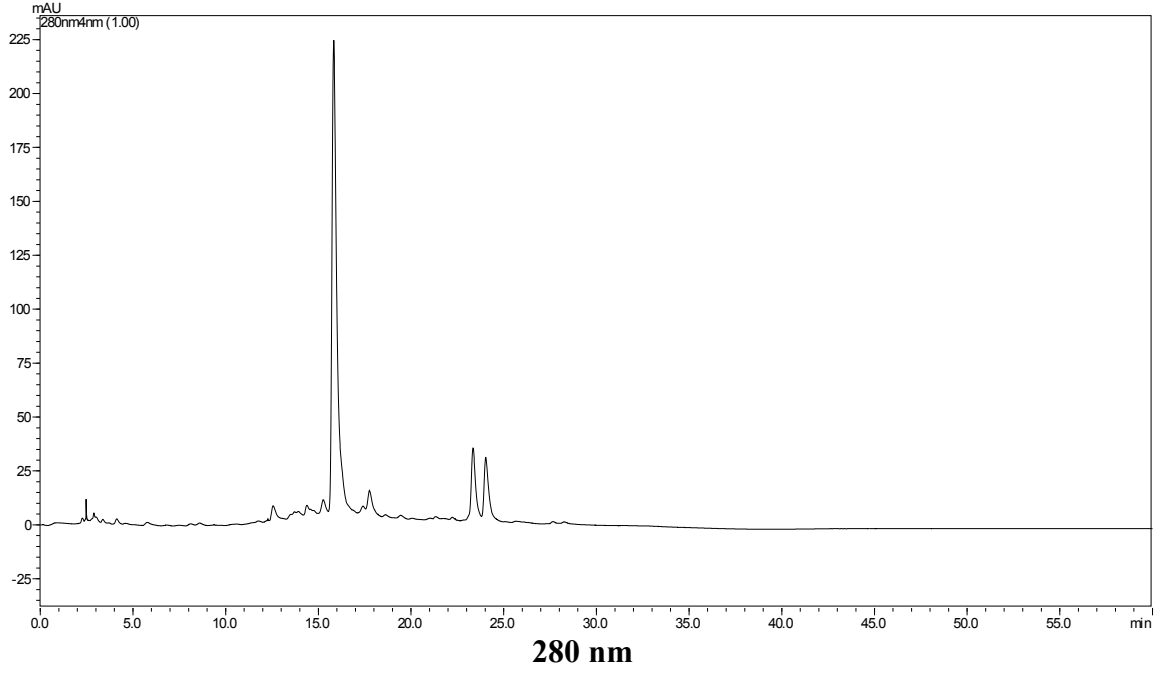


PG8 30. gün

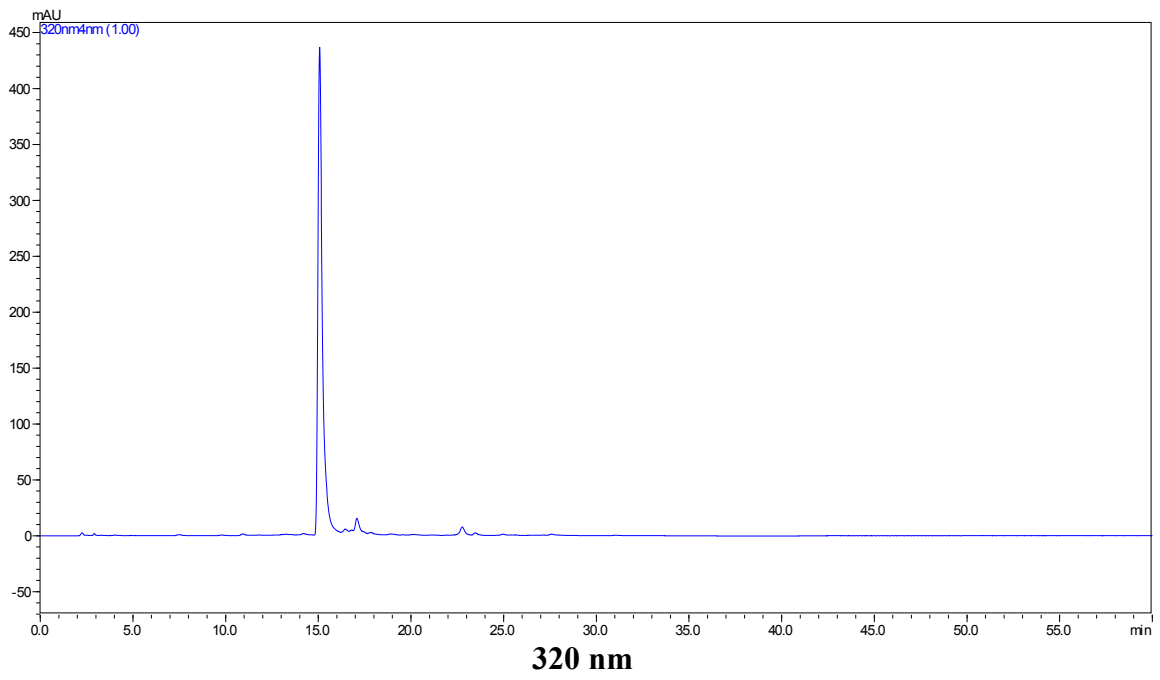
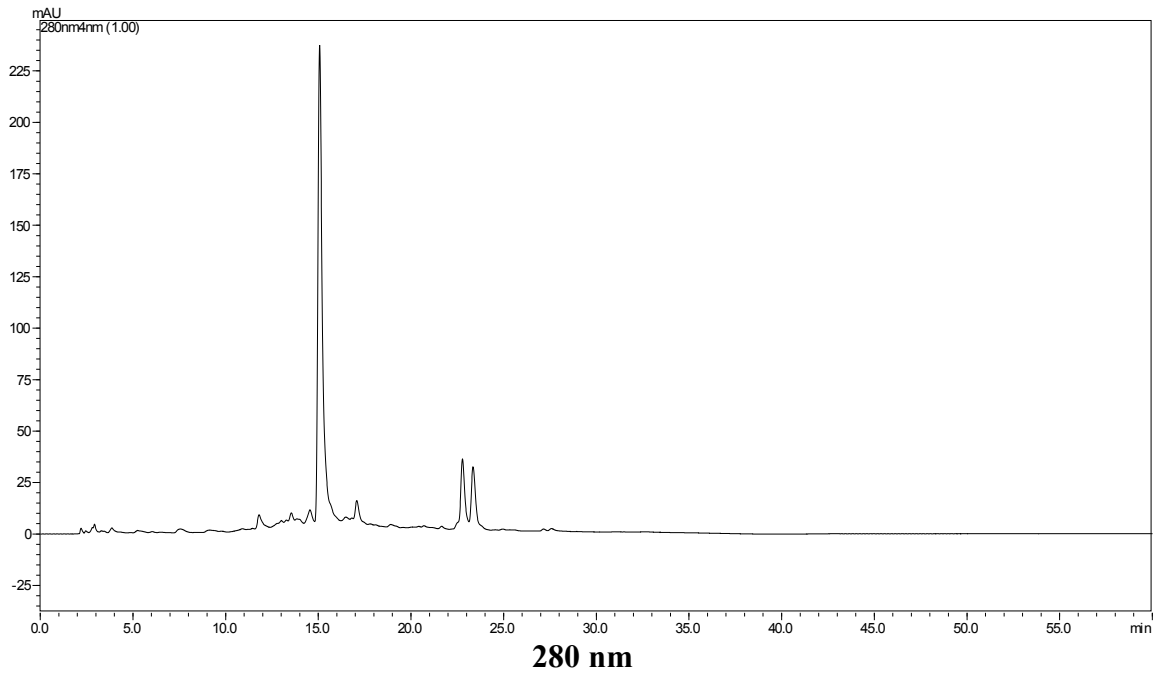


PG8 60. gün

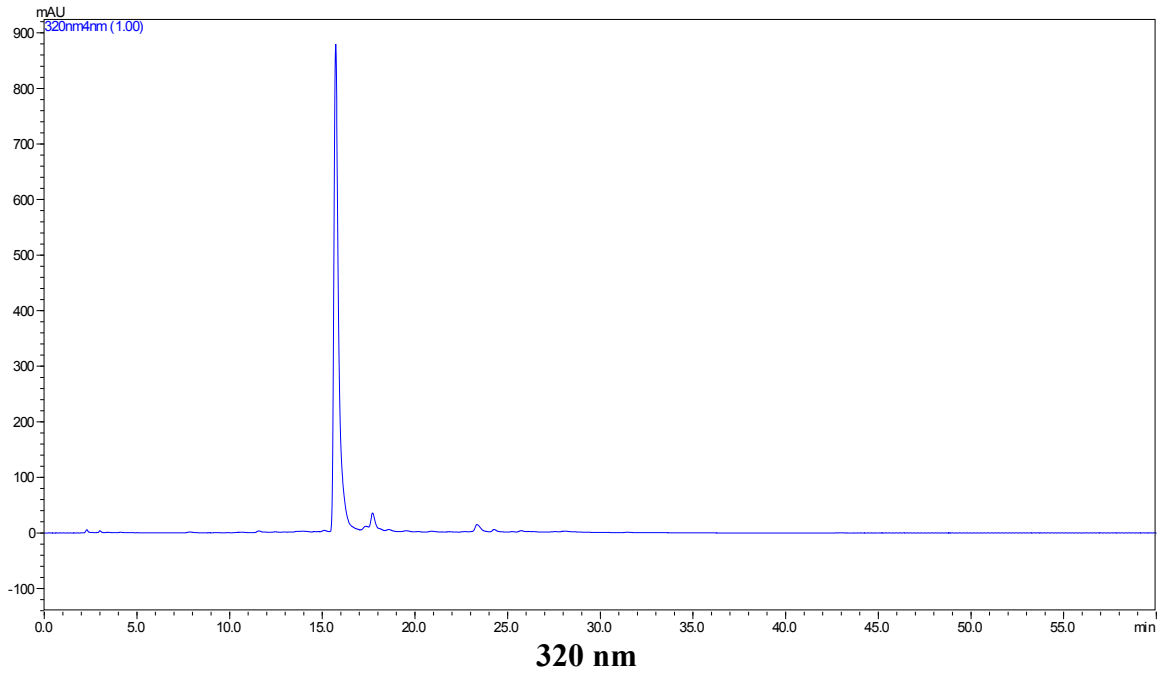
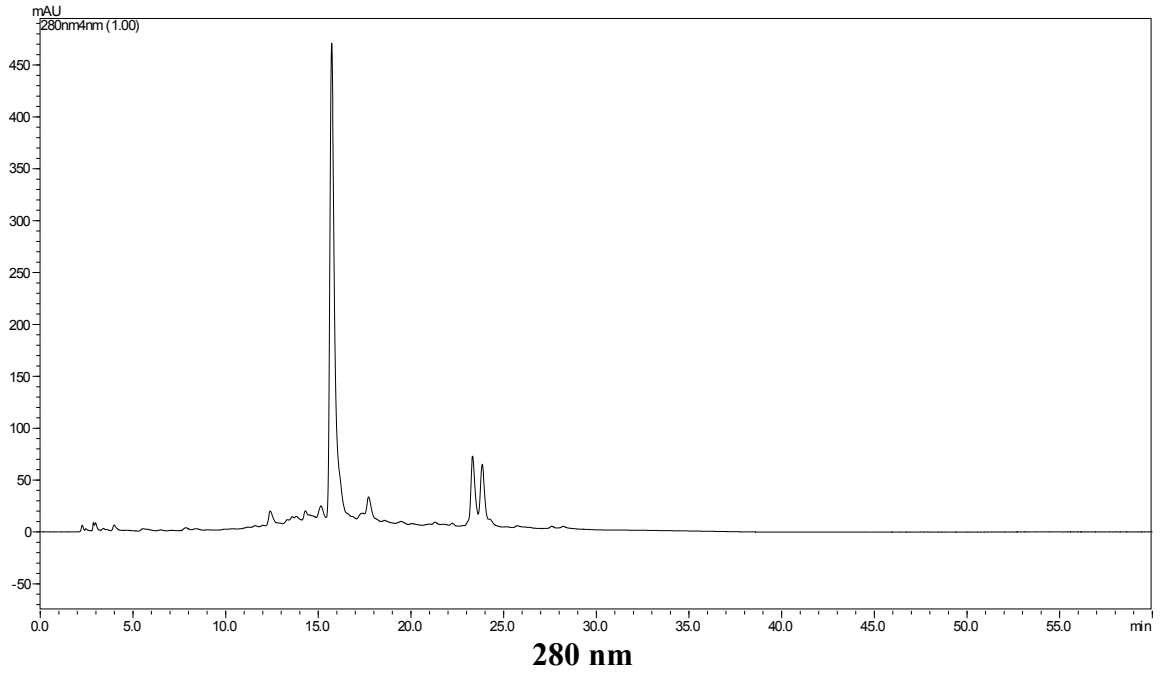
Ek-4. Probiyotik gilaburu suyu örneklerine ait HPLC kromotogramları



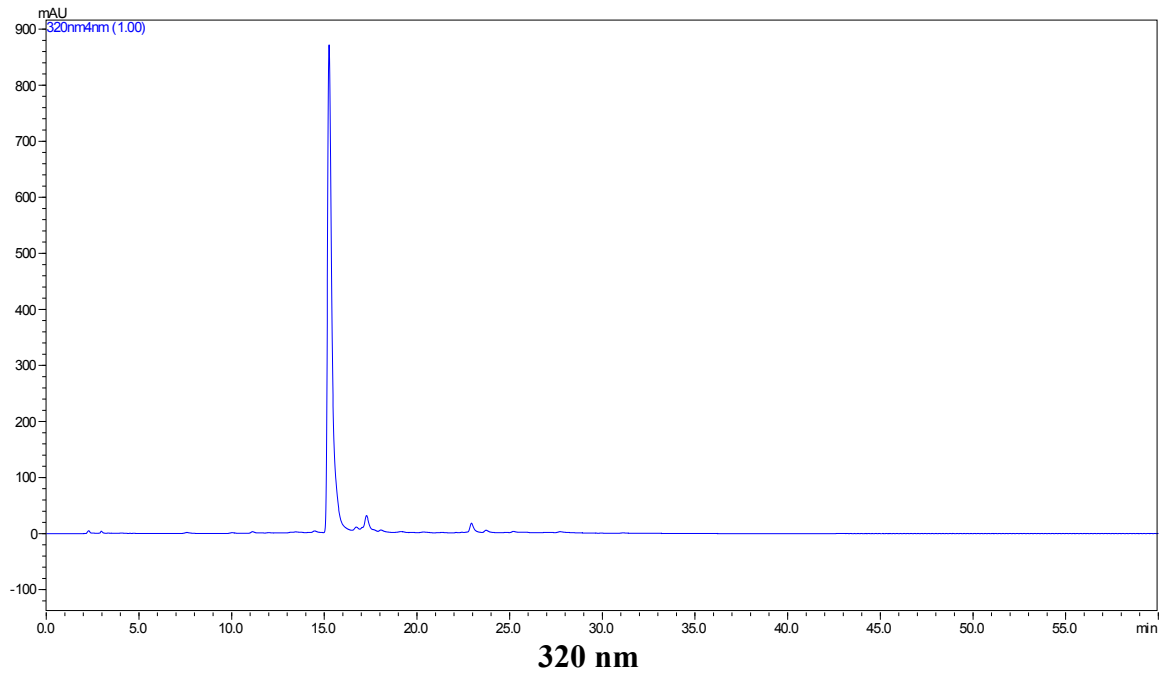
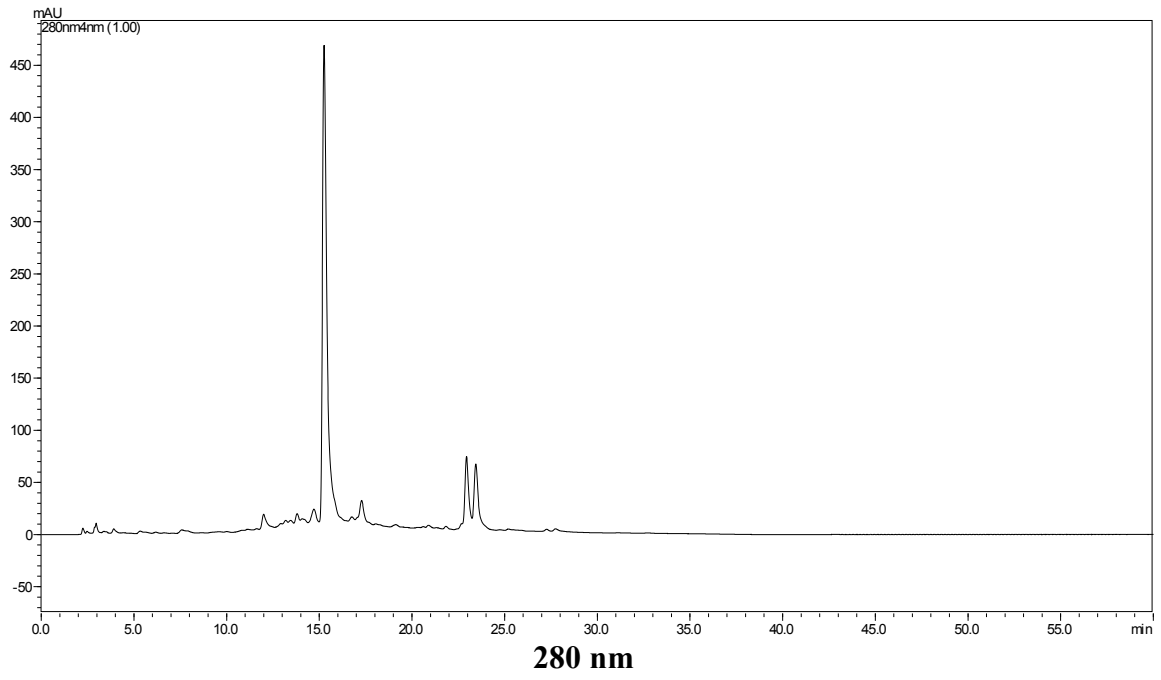
Kontrol -0. gün



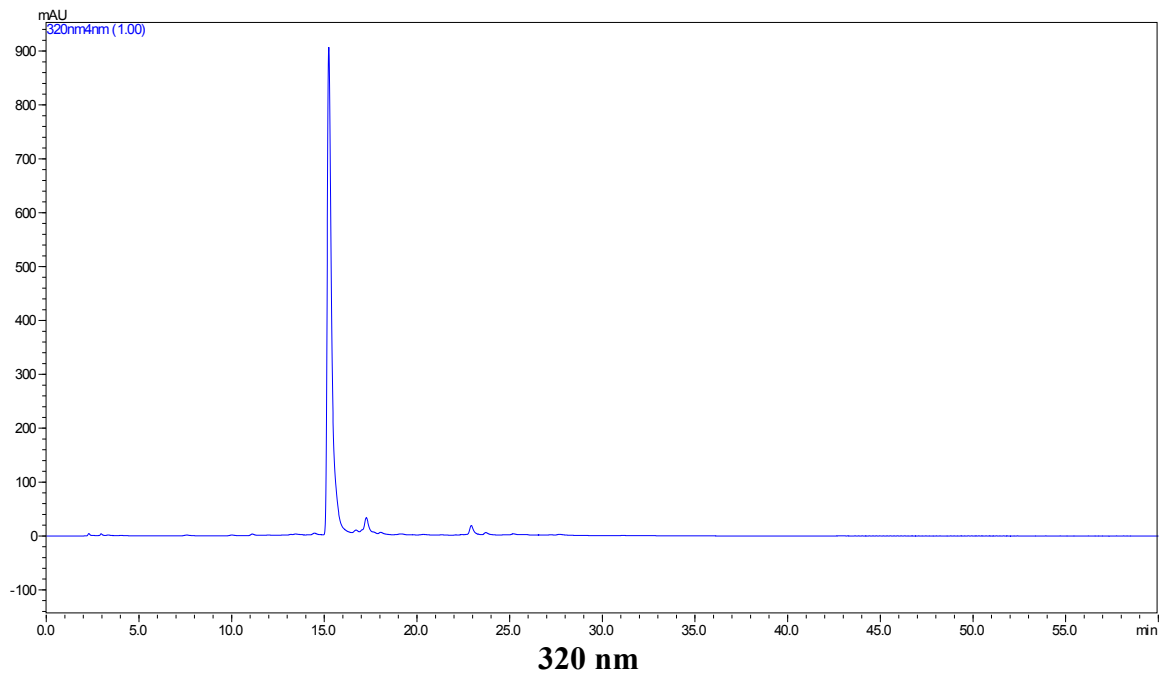
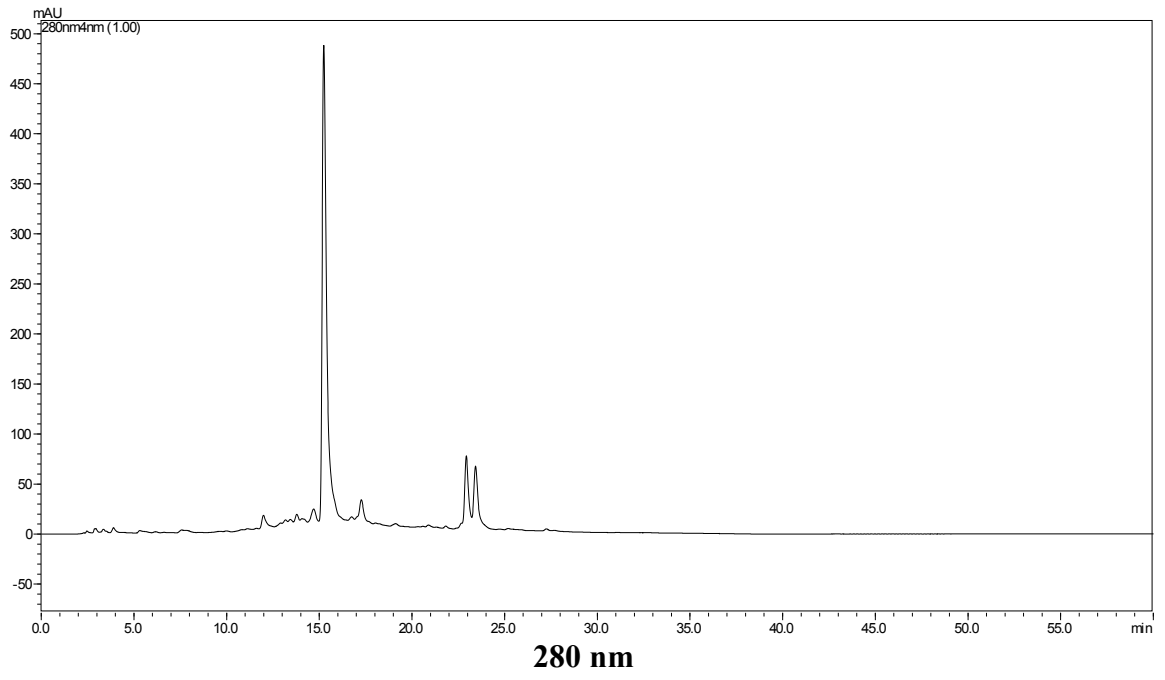
PG8-0. gün



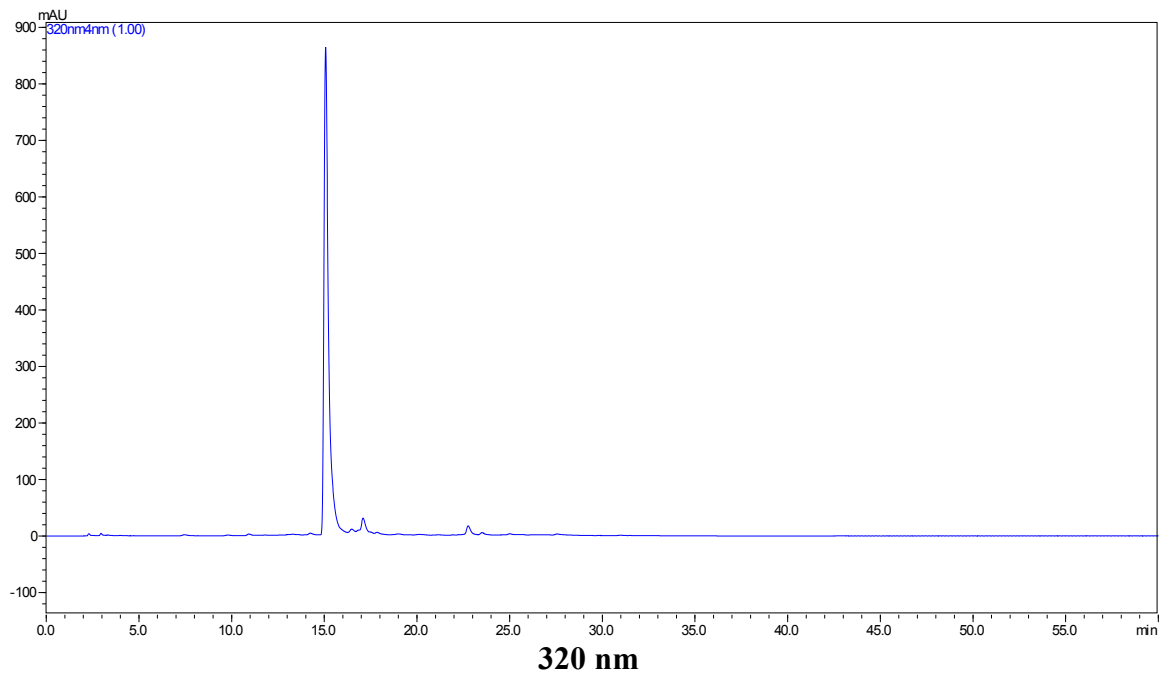
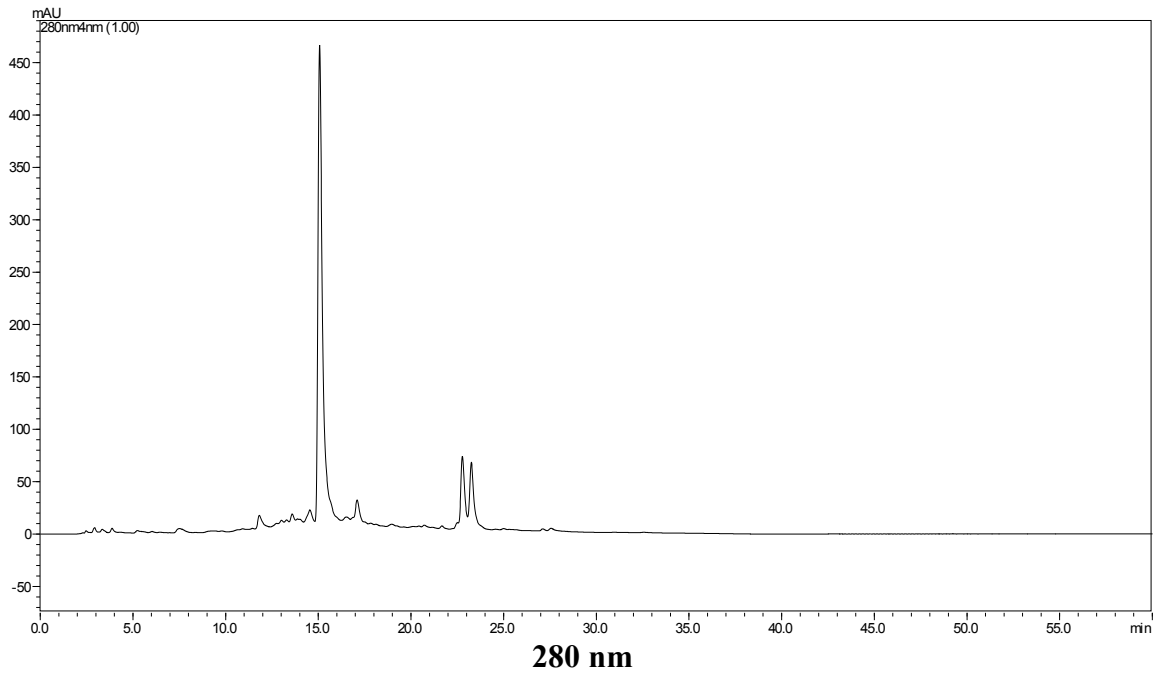
Kontrol-15. gün



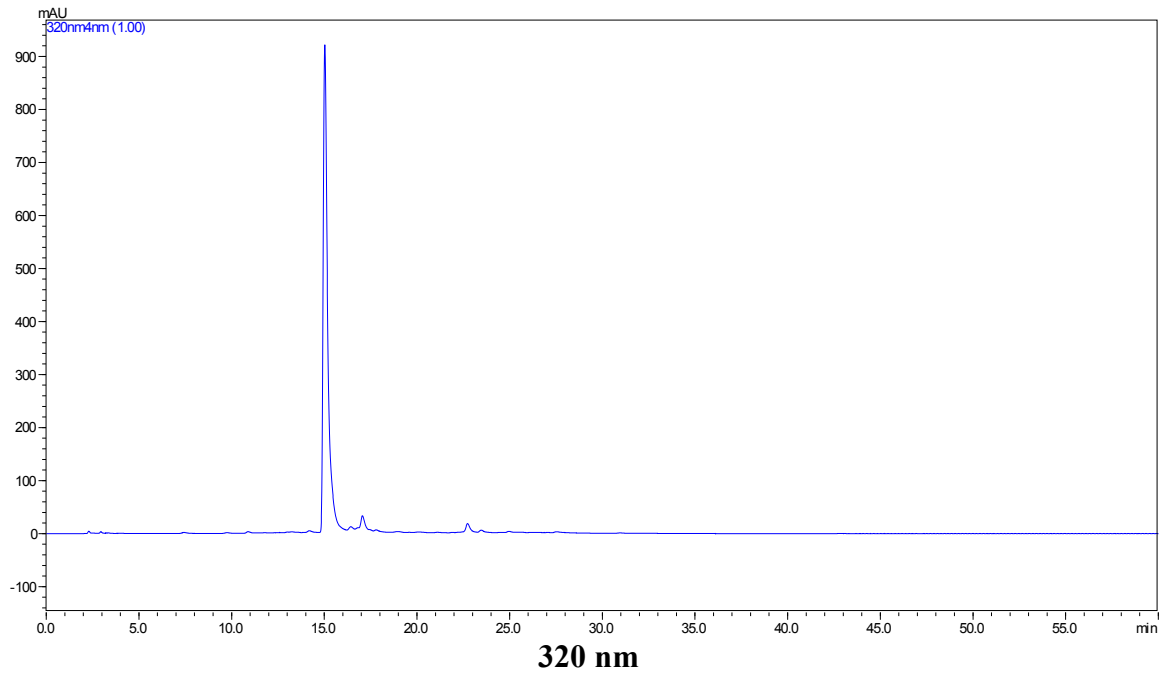
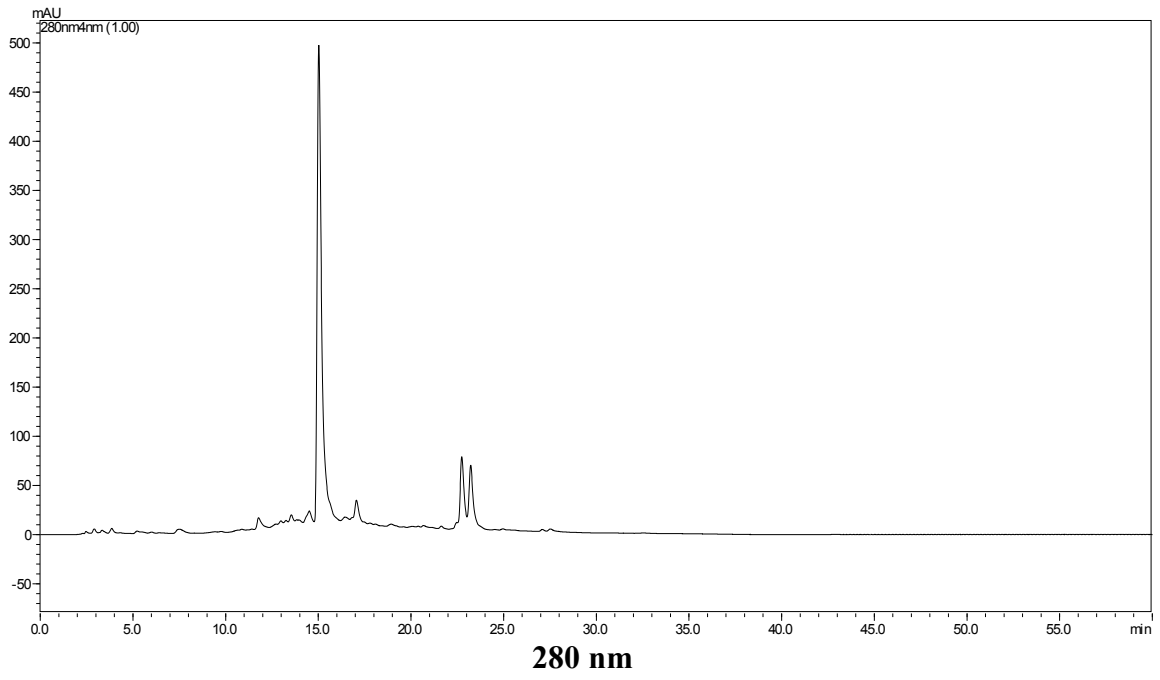
PG8-15. gün



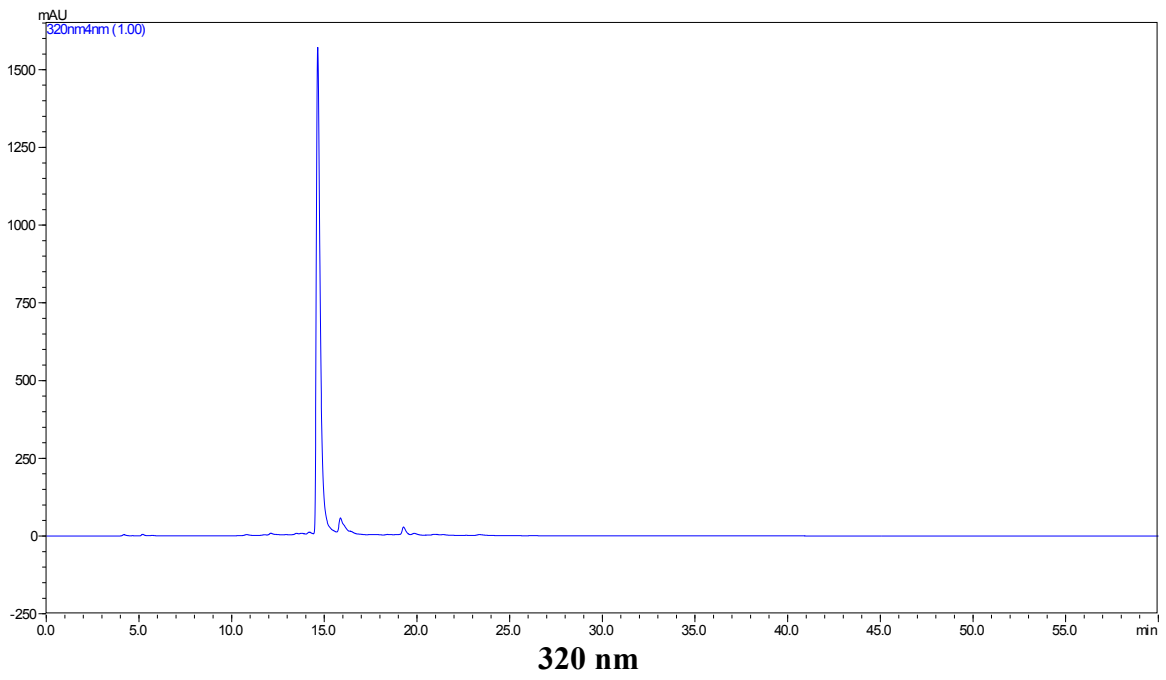
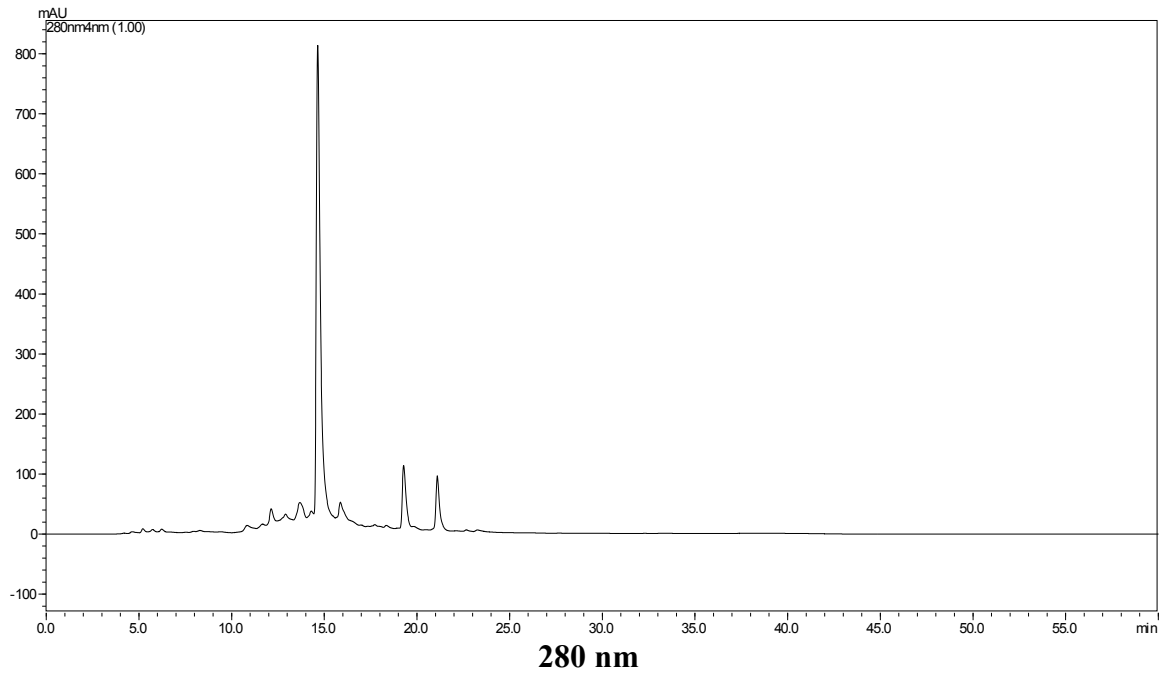
Kontrol-30. gün



PG8-30. gün



Kontrol -60. gün



PG8-60. gün