TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SÜTÜN YOĞURDA DÖNÜŞÜMÜ SIRASINDA İÇERDİĞİ FENOLİK ANTİOKSİDAN MADDELERE PROBİYOTİK BAKTERİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

SUAT METİN NAYİR
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Ayten SAĞIROĞLU

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SÜTÜN YOĞURDA DÖNÜŞÜMÜ SIRASINDA İÇERDİĞİ FENOLİK ANTİOKSİDAN MADDELERE PROBİYOTİK BAKTERİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

SUAT METİN NAYİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Danışman
Doç. Dr. Ayten SAĞIROĞLU

EDİRNE 2008

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SÜTÜN YOĞURDA DÖNÜŞÜMÜ SIRASINDA İÇERDİĞİ FENOLİK ANTİOKSİDAN MADDELERE PROBİYOTİK BAKTERİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

SUAT METİN NAYİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez 17.10.2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından kabul edilmiştir.

EDİRNE 2008

Doç. Dr. Ayten SAĞIROĞLU
Danışman

Yrd. Doç. Dr. Hülya YAĞAR
Üye

Yrd. Doç. Dr. Figen ERTAN
Üye

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
SUMMARY	iii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. PROBİYOTİK BAKTERİLER	3
2.1.1. Probiyotik Bakterilerin Tarihçesi	4
2.1.2.İyi Bir Probiyotiğin Özellikleri	5
2.1.3 Probiyotik Bakterilerin Etkinliğini Belirleyen Temel Faktörler	6
2.1.4. Probiyotik Mikro Organizmaların Etki Mekanizması	6
2.1.5. Probiyotiklerin Aktivitesini Etkileyen Faktörler	7
2.1.6 Probiyotik Bakteri Çeşitleri	7
2.1.7. Probiyotiklerin Sağlık Açısından Görevleri	8
2.1.7.1 Bağırsak Florası Bozulması Ve Sonuçları	9
2.1.7.2. Bağırsak Florasının Bozulmasına Bağlı Hastalıklar	10
2.1.7.3. Kanser Probiyotik İlişkisi	11
2.1.7.4. İdrar Yolu Hastalıkları	12
2.1.7.5. Alerji	12
2.1.7.6. Romatoid Artrit	13
2.1.7.7. Okzalat Taşı	13
2.1.7.8. Serum Kolesterol Düzeyinin Düşürülmesi	14
2.1.7.9. Vitamin Üretimi	14
2.2. PROBİYOTİKLERİN GIDALARDA KULLANILIŞI	14

2.2.1. Süt 15

2.2.2. Peynir Teknolojisinde Laktobasiller 17

2.2.2. Yoğurt Üretiminde Probiyotikler 18

2.3. PROBİYOTİKLERİN DİĞER KULLANIM ALANLARI 18

2.3.1. Deniz Ürünlerinde Kullanımı 18

2.3.2. Probiyotiklerin Hayvan Besleme Alanında Kullanımı 19

2.3.3.Kimyasal Madde Üretiminde Kullanılması 20

2.3.4. Kefir 20

2.4. PREBİYOTİK 24

2.4.1. Prebiyotiklerin Kimyasal Yapısı 27

2.4.2. Prebiyotiklerin Sağlığımız Üzerindeki Olumlu Etkileri 27

2.4.3. Mineral Biyoyararlanımı Üzerine Etkileri 28

2.5. PROBİYOTİK VE PREBİYOTİK ARASINDAKİ İLİŞKİ 28

2.5.1. Simbiyotik İlişki 28

2.6.AROMATİK BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ 29

2.6.1. Fenolik Maddeler 29

2.6.2 Antioksidan Özellikleri 32

2.6.2.1. Antioksidanların Tarihi 33

2.6.2.2. Antioksidan Türleri 33

2.6.2.3. Antioksidanların Gıdalardaki Fonksiyonu 35

2.6.2.4. Gıda Katkısı Olarak Antioksidanlar 35

2.6.2.5. Antioksidanların Sistem Ve Hidrofobiyete Bağımlılığı 37

2.6.2.6. Gıdalardaki Doğal Antioksidanlar 38

2.7. PEROKSİDAZ 38

2.8. LAKKAZ ENZİMİ 39

2.9. β-GLUKOZİDAZ 40

3. MATERYAL ve METOT 41

3.1. MATERYALLER 41

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler 41

3.1.2. Alet ve Cihazlar 41

3.1.3. Hazırlanan Çözeltiler 41

3.2. METODLAR 42

3.2.1. Probiyotik Yoğurdun Hazırlanması 42

3.2.2. Genel Aktivite Testleri 42

3.2.2.1 Standart Kateşol Grafiği ve Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayin Metodu 42

3.2.2.2. Antioksidan Aktivite Tayin Metodu 42

3.2.2.3. Lakkaz Aktivite Tayin Metodu 43

3.2.2.4. Toplam Peroksidaz Tayin Metodu 43

3.2.2.5. β-Glukozidoz Aktivite Tayin Metodu 43

3.2.2.6. Protein Tayini 44

3.2.3. Genel Optimisasyon Testleri 45

3.2.3.1. Bakteri Miktarının Etkisi 45

3.2.3.2. Bakteri Kulanım Seklinin Etkisi 45

3.2.3.3. Substrat Adapteli Bakteri Etkisi 46

4. ARAŞTIRMA BULGULARI 46

4.1 FENOLİK MADDE TAYİNİ İÇİN STANDART EĞRİ 46

4.1.1. Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi 46

4.1.2.Antioksidan Aktivite Tayini 47

4.1.3. Lakkaz Aktivite Tayini 48

4.1.4 Peroksidaz Aktivite Tayini 48

4.1.5 β-Glukozidaz Aktivitesi İçin Standart Eğri 49

4.1.5.1 β-Glukozidaz Aktivitesinin Belirlenmesi 49

4.1.6. Protein Tayini 50

4.2. BAKTERİ MİKTARININ ETKİSİ 51

4.2.1. Fenolik Maddedeki Değişimi 51

4.2.2. Antioksidan Aktivitesine Bakteri Miktarının Etkisi 51

4.2.3. Bakteri Miktarının Beta Glukozidaz Aktivitesine Etkisi 52

4.2.4. Protein Miktarına Etkisi 52

4.3. BAKTERİ KULLANIM ŞEKLİNİN ETKİSİ 53

4.3.1. Fenolik Bileşik Miktarına Etkisi 53

4.3.2.Antioksidan Aktivitesine Etkisi 53

4.3.3. B-Glukozidaz Aktivitesine Etkisi 54

4.3.4. Protein Tayinine Etkisi 54

4.4. SUBSTRAT ADAPTE BAKTERİ ETKİSİ 55

4.4.1. Fenolik Bileşik Miktarına Etkisi 55

4.4.2. Antioksidan Aktivitesine Etkisi 55

4.4.3. β-Glukozidaz Aktivite Tayini 56

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA 57

6. KAYNAKLAR 63

7. TEŞEKKÜR 66

8. ÖZGEÇMİŞ 67

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa No
Şekil 2.1.	Fermantasyonla çoğaltılmış kefir taneleri	20
Şekil 2.2.	Bir prebiyotik prototipi olan inülinin kimyasal yapısı	25
Şekil 2.3.	İnsan kolon florası tarafından fermantasyon.	26
Şekil 2.4.	Oligosakkaritlerin bağırsak bakterileri tarafından fermantasyonu sonucu ortaya kısa zincirli yağ asitleri ve bunların sağlığımız üzerindeki olumlu etkileri	26
Şekil 2.5.	Temel aromatik halkalar	30
Şekil 2.6.	Temel sınıftaki Flavonoidlerin yapısı	31
Şekil 4.1.	Fenolik bileşik standardı	46
Şekil 4.2.	Yoğurt örneklerindeki Fenolik bileşik miktarı	46
Şekil 4.3.	Yoğurt örneklerindeki Antioksidan aktivitesi	47
Şekil 4.4.	Yoğurt örneklerindeki Lakkaz aktivitesi	47
Şekil 4.5.	Yoğurt örneklerindeki Peroksidaz aktivitesi	48
Şekil 4.6.	β-glukozidaz aktivitesi için p nitro fenol standardı	48
Şekil 4.7.	Alınan yoğurt örneklerinde beta glukozidaz aktivitesi	49
Şekil 4.8.	Protein tayini için standart grafik	49
Şekil 4.9.	Alınan yoğurt örneklerinde protein tayini	50
Şekil 4.10.	Bakteri miktarında ki değişimin fenolik madde miktarına etkisi	51
Şekil 4.11.	Bakteri miktarının antioksidan aktiviteye etkisi	52
Şekil 4.12.	Bakteri miktarının beta glukozidaz aktivitesine etkisi	52
Şekil 4.13.	Bakteri miktarının protein tayinine etkisi	53
Şekil 4.14.	Bakteri kullanım şeklinin fenolik madde miktarına etkisi	53
Şekil 4.15.	Bakteri kullanım şeklinin antioksidan aktivitesine etkisi	54
Şekil 4.16.	Bakteri kullanım şeklinin β-glukozidaz aktivitesine etkisi aktivitesine etkisi	54
Şekil 4.17.	Bakteri kullanım şeklinin beta glukozidaz aktivitesine etkisi	55
Şekil 4.18.	Substrat adapteli bakterilerle mayalanan yoğurtta fenolik bileşik miktarı	55
Şekil 4.19.	Substrat adapteli bakterilerle mayalanan yoğurtta antioksidan aktivitesi	56
Şekil 4.20.	Substrat adapteli bakterilerle mayalanan yoğurtta beta glukozidaz aktivitesi tayini	56

TABLO DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Probiyotik Bakterilerin başlıca sınıfları 8

Tablo 2.2. Kefirin kimyasal bileşenleri 21

Tablo 3.1. Protein tayini 45

ÖZET

Bu çalışmada sütün yoğurda dönüşümü sırasında içerdiği fenolik antioksidan etkili maddelere probiyotik bakteri(*Lactabacilluous acidophulus, Lactabacilluous bulgaricus, Streptococus thermofilus*) etkisini incelendi. 48 saat mayalama süresince değişen aktiviteler incelendi. 47,5 ml süte 2,5 g bakteri katılarak yoğurt mayalandı. 8 saat arayla yoğurttan örnekler alınarak bu zaman aralığındaki fenolik madde değişimi ve buna bağlı olarak antioksidan aktivitesi, β glukozidaz aktivitesi, lakkaz aktivitesi, peroksidaz aktivitesi ve protein miktarındaki değişim incelendi.

Fenolik madde tayini fenolik bileşiklerin Folin belirteci ile verdiği reaksiyon sonucundaki renk değişimine göre 725 nm de spektrofotemetrik ölçüme göre yapıldı. Sekizinci ve otuz ikinci saatlerde fenolik madde miktarında artış gözlendi.

Antioksidan aktivitesi 1,1 difenil 2- picahidrazil DPPH' ı süpürme miktarına göre gerçekleşen renk değişimi ile 517 nm de spektrofotometrik ölçüm ile yapıldı ve 24. saatte antioksidan aktivitesi artışı maksimim seviyeye ulaştı.

Lakkaz aktivitesi, her bir mg protein ünitesi olarak ifade edilen bir ünite deney koşullarında ABTS oksidasyonuna uğramış 1μmol üreten enzim miktarı olarak tanımlanır. 420 nmde ABTS oksidasyonunu molar söndürme katsayısı 36 m cm^{-1}dir. 8,24 ve 32. saatlerde aktivitenin arttığı ve buna bağlı olarak 32. saatte fenolik bileşik miktarının da arttığı polifenollerin degrasyona uğradığı görülmüştür.

Peroksidaz aktivitesinin de 8, 16 ve 40. saatlerde arttığı spektrofotometrik yöntemle 420 nm de gözlenmiştir.

β-glukozidaz aktiviteside p-nitro fenilin -β glukopranozid bileşiğinin azalmasına karşı 400 nm de renk değişimine göre incelendi. Sadece 16. saatte artıp diğer saatlerde sürekli olarak azaldığı gözlendi.

Değişen bakteri miktarının etkisi incelendiğinde; fenolik madde değişiminde 16.saat sonrasında artış ve azalışların değiştiği gözlendi. Antioksidan aktivesinde en iyi aktivasyonun 1 g bakteri/9 ml süt olduğunda gözlemlendi. β-glukozidaz aktivitesinde de 0,5 g bakteri/ 9 ml süt ve 2 g bakteri/ 9 ml süt kullanımın aktifliği düşürdüğünü gözlemlendi. Protein miktarlarının anlamlı bir değişimi olmadı.

"Bakterileri MRS Broth besi ortamında yetiştirdikten sonra bu bakteri ile üretilen yoğurtlarda fenolik bileşik miktarının ilk 16 saatte maksimuma ulaştığı daha sonra azaldığı

tespit edildi. Antioksidan aktivitesinin değişimi, β glukozidaz aktivitesi ve protein miktarına etkisi de incelendi. Belirgin farklılık bulunmadı.

Kateşollü MRS Broth ortamında yetiştirilen bakterilerle mayalanan probiyotik yoğurtta da bütün tayinler yapılarak aradaki farklılıklar belirlendi.

Anahtar kelimeler: fenolik, β-glukozidaz, lakkaz, peroksidaz, antioksidan, probiyotik bakteri

SUMMARY

İn this study we have examined the effect of probiotic bacteria to effective fenolic antioxidant subtance in the process of changing activities are examined. By eding 2,5g bacteria to 47,5 ml milk the yoghurt is fermented. By taking samples from yogurt among 8 hours, the change in fenolic substances. In these hours and according to this antioxidan activity and change of amount in protein are examined.

Fenolic substance search is done according to colour change in the reaction between fenolic compound and Folin marker in 725 nm spektrofotometric measurement in 8th and 32th hours, it is observed that there is an increase in the amount of fenolic substance.

Antioxidant activity is done due to colour change is sweeping 1-1 diphenil 2-pica hidrazil (DPPH) and in 517 nm spectraphotometric measurement and in 24 th hour the antioxidant activity increase reached to maximum degree.

Laccase activity is expressed in units per miligram protein, with 1 unit defined as the amount of enzyme that produces 1 μ mol ABTS oxidized perm in under assay conditions. The molar exinction cofficient of oxidized ABTS at 420 nm is 36,000 M^{-1} cm^{-1}. There is an increase in the activity in 8 th, 24th and 32nd hours and according to this, in 32th hours and according to this, in 32nd hour there is an increase in the amount of phenolic compound and it is seen the poliphenols are degrated.

There is an increase in peroxidase activity in 8th, 16th and 40th hours in 420 nm by spectrophotemetric method.

We have examined the β-glucosidase activity due to the decrease in p-nitrofenil-β-gluko compound in the colour change in 400 nm and we have observed that there is an increase in 16 th hour and a decrease continuously.

As the effect of changing of amount bacteria is examined , after the 16th hour in changing of phenolic substance changes in increases and decreases are observed. We have observed that in antioxidant activity the best activation is in 1 g bacteria/9 ml milk and β glucosidase 0,5g bacteria / 9 ml milk and 2g bacteria / 9 ml milk usage decreased the activation. There is a slight change in protein amount.

After growing up the bacterias in mrs broth fatteting area in the yogurts that are produced . we have observed that in the first 16 hours phenolic compound amount reached to

maximum degree and then there is decrease in it . we have examined antioxidant activity change , the cahanges in β glucosidase and protein search.

By doing the activity search in the bacterias that are grown up in mrs broth fattening area with catechin and fermenting yoghurt , the differences are determined.

Keywords: phenolic, β glucosidase, laccase, peroxidase, antioxidant, probiotic bacteria.

1. GİRİŞ

Probiyotik bakteriler; hayvansal organizmaların bağırsak florasını meydana getiren mikroorganizmaların en büyük sınıfıdır. Bağırsak florasını; hayvansal organizmaların sindirim kanalında yaşayan burada birçok yararlı işlevi olan mikroorganizma toplulukları meydana getirir.

Bir insanın vücudundaki ortalama hücre sayısı 10^{13} civarında hesaplanmıştır. Hâlbuki bağırsak florasındaki ortalama hücre sayısı, vücut hücre sayısının 10 katı (10.10^{13}) kadar olduğu tahmin edilmektedir (Fuller, 1998). İçimizde yaşayan bu şaşırtıcı topluluğun, daha dikkatle incelenmesi, hakkında daha fazla bilgi edinilmesi ve üzerinde daha fazla araştırma yapılmasının insanın sağlığı açısından gerekli olduğu açıktır.

Araştırmalarla; organizma ile bağırsak florası arasındaki ilişki simbiyotik ve mutualistik olarak tanımlanmıştır. Simbiyotik ilişki, iki canlının birlikte yaşamasının her ikisine de yarar sağlamasıdır. Mutualistik ilişki, iki canlının yaşamını karşılıklı olarak kolaylaştırması, daha sağlıklı kılması şeklinde açıklanabilir.

İnsanın sindirim sistemindeki probiyotik bakterilerin çoğunluğu kalın bağırsaklarda gram negatif bakteriler türünde bulunurken, mide ve ince bağırsaklarda daha az ve gram pozitif bakteriler türünde bulunurlar. Kalın bağırsaklar bakteri etkinliği bakımından en aktif organlardır. Burada ilk önce bakteriler yardımıyla karbonhidratlar, sonra protein ve aminoasitler fermantasyona uğratılırlar. Kalın bağırsağın; pH'ı, bağışıklık sistemi ve kasılma hareketlerinin etkisiyle farklı yerlerindeki bakteri türleri de farklılık gösterir. Bağırsaklardaki bakteriler % 99'a yakın anaerobiktir. Ancak kalın bağırsağın başlangıç kısımlarında aerobik bakterilerde bulunur.

Bağırsak bakterilerinin çoğunluğu yararlıdır, fakat zararlı bakterilerde bulunur. Doğada olduğu gibi insanda yararlı ve zararlı bakteriler bağırsaklarda dengeli bir ekosistem içinde yaşar. İnsanın kendisinin ve ortamının sebep olduğu; yanlış beslenme, alkol, sigara, stres, antibiyotikler, diğer ilaçlar ve yaş gibi etkenlerle bahsedilen bağırsak ekosistemi bozulur. Bu bozulma yararlı bakteri topluluğunu azaltıyorsa, sindirim sisteminde; ishal, kabızlık, ülserleşme, gastrit, zehirlenme gibi hastalıklar başlar.

Hastalığın tedavisi amacıyla alınan antibiyotik ve ilaçlarda zararlı bakteriler yanında yararlı bakterileri de etkisiz hale getirebilir. Bu bakımdan doktor ve hastanın ilaçlar konusunda da dikkatli olmaları gerekir.

Böyle durumlarda bağırsak ekosistem dengesini sağlamak için dışarıdan destek alınması gerekmektedir. Bunun için günümüzde bazı firmalar çeşitli canlı kaynaklarından izole edip, tanımladıkları bazı yararlı bakteri çeşitlerini kültürleme ile üreterek " Probiyotik bakteri kültürleri, halinde doğrudan veya süt ve süt ürünleri, kefir gibi gıdalar içinde piyasaya çıkarmışlardır. Birçok gıda üretici firma probiyotik katkılı, yoğurtlar, peynirler üretip pazarlamaktadırlar. Aynı amaçla büyük-küçük baş hayvanların, kümes hayvanlarının probiyotik katkılı yemleri de kullanılmaya başlanmıştır (Gibson, 2000). Günümüzde popüler hale gelen probiyotik katkılı yoğurtlarda; probiyotiksiz yoğurtlara göre kimyasal bileşik kapsamı bakımından nasıl değişiklikler olduğunun bilinmesi önemlidir. Bu amaçla araştırmalar başlatılmış olup henüz yetersiz düzeydedir.

Probiyotik genel anlamıyla, düzenli olarak yeterli miktarda tüketildiklerinde bağırsak mikro florasına yerleşerek kullanan kişiye normal beslenmenin ötesinde çeşitli faydaları olan mikroorganizmalar olarak açıklanabilir.

Bu tez kapsamında günlük yaşamda çok tüketilen, temel proteinli besinler arasında ilk sırada yer alan süt ve süt ürünlerinden yoğurdun probiyotik katkılı, yeni popüler ürünlerinin içerdiği fenolik madde ve antioksidanların probiyotik bakterilerin zamana bağlı etkisiyle nasıl değiştiğini belirlemek için toplam fenolik bileşik miktarları, antioksidan düzeyleri belirlendi. Enzimlerden peroksidaz, lakkaz ve β-glukozidaz aktivitelerindeki değişimler yardımıyla da meydana gelen fenolik madde değişimleri takip edilerek etkilenme zamanına bağlı olarak fenolik maddelerin hareketi hakkında bilgi edinildi.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. PROBİYOTİK BAKTERİLER

"Probiyotik" Yunanca bir sözcük ve "yaşam için" anlamına geliyor. Probiyotik bakteriler içinde bulunduğu canlının sindirim sistemine faydalı etkilerde bulunan mikroorganizmalar için kullanılan bir terimdir.

Bazı laktik asit bakterileri probiyotik bakteriler sınıfındandır ve yoğurtlarda daha çok bu türler kullanılır. Probiyotikler; insanların veya hayvanların doğal mikroflorasına ait özellikleri geliştiren, tüketilmeleri sonucunda ağızda, gastrointestinal sistemde, üst solunum yollarında ya da ürogenital kanallarda yararlı etkileri ile konakçının sağlığında iyileşmeye sebep olan tek veya karışık canlı mikroorganizma kültürleridir (Kullen, M.J. ve Klaenhammer, 1999). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar probiyotiklerin sağlık üzerindeki olumlu etkisinin sadece mikroorganizma hücrelerinden değil, içerdiği metabolitlerinden de kaynaklandığını ortaya koymuştur Probiyotiklere *Lactobacillus*, *streptococcus, Bifidobacterium, Bacillus* cinsleri içerisinde yer alan bakteriler örnek olarak verilebilir. Bu türler, mide-bağırsak florasının önemli popülasyonunu oluşturmaktadır (www.odevsitesi.com/ odevler/arsiv1/23820-probiotikler.htm). Reuter ve meslektaşları insan gastrointestinal sistemi ile ilgisi olan tipik *Laktobasil* türleri ile ilgili çalışmalar yapmışlar ve kesin sonuçlara dayanarak, insanlarda bulunan *homofermentatif laktobasil* türlerini üç grup altında toplamışlardır. Birinci grup *L. acidophilus, L. gasseri, L. crispatus* ve L. Johnsonii'yi içeren "*Lactobacillus acidophilus* grubu"dur. Diğer iki grup ise "*Lactobacillus salivarius*" ve "*Lactobacillus casei'"*'yi içermektedir. Son grupta *L. paracasei, L . zeae ve L. rhamnosus* bulunmaktadır. Reuter ve meslektaşları *L. reuteri* ve *L. fermentum'u* da insan gastrointestinal sisteminde bulunan en önemli *Heterofermentatif laktobasiller* olarak tanımlamışlardır (Holzapfel ve Schillinger (2002)).

Probiyotik bakteriler gram pozitif, sporsuz, çomakçık şeklindedirler. *L. acidophilus*'un optimum üreme sıcaklığı 35-38^{o}C'dir. *Bifidobacterium* türleri *Heterofermentatiftir* ve anaerobik olarak laktik ve asetik asidi 2:3 oranında üretirler. Probiyotik bakteriler mide asitliğine diğer bakterilere göre daha dayanıklıdır, safra tuzuna ve lizozim enzimine daha dirençlidir. *Lactobacillus*'un türleri ince bağırsakta

fazla sayıda bulunurken, *Bifidomacterium*'lar kalın bağırsakta bulunurlar. Probiyotik bakteriler laktik asit, asetik asit ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal maddeler üreterek, bağırsaklarda istenmeyen mikrofloranın çoğalma hızını kontrol ederler ve mikrofloranın dengede olmasını sağlarlar. Gram pozitif bakteriler, bakteriyosinlere çok duyarlıdır. L. *reuteri* ürettiği gliserol ve reuterin ile gram pozitif ve gram negatif bakterilerin inhibisyonuna neden olur (Holzapfel ve Schillinger (2002)). Probiyotiklerin bulunduğu konakçıdaki diğer mikroorganizmalara karşı güçlü bir etkileri ve konakçıya yararları olduğu kesin olarak kabul edilmiştir.

2.1.1. Probiyotiklerin Tarihçesi

İnsanlar yüzyıllardır içeriklerini ve fonksiyonlarını bilmeden birçok fermente besin ürününü yaygın olarak kullanılmışlardır. 2000 yıl öncesinde Asya ve Orta Doğu'da tarihte ilk defa Türkler tarafından sütün fermantasyonuyla yoğurt elde edilmiştir. Yoğurt süte göre daha dayanıklı kendine göre hoş tadıyla bir yaşam kaynağı ve sağlık veren besin olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır.

Laktobasiller ilk olarak Fransa'da modern mikrobiyolojinin konusu olan Pasteur tarafından tanımlanmış ve probiyotik özelliklerine dikkat çekilmiştir. Probiyotiklerin tam olarak anlaşılması Bulgar köylülerinin uzun yaşamlarının fermente süt ürünleri tüketimlerinden kaynaklandığını savunan Nobel ödüllü Rus fizyolist Metchnikcoff (1845-1916)'un intoksikasyon teorisiyle gerçekleşmiştir.

Kişilerin artan sağlıklı yaşam talepleri için bilimsel olarak desteklenmiş, rahatsızlık riskini azaltan probiyotik bakteriler içeren fonksiyonel yiyecekler marketlerde kapsül, toz, zenginleştirilmiş yoğurt, peynir ve benzeri ürünler şeklinde raflardaki yerini almıştır (Bennie Analie Lourens-Hattıngh ve Vıljoen 2001).

2.1.2. İyi Bir Probiyotiğin Özellikleri

İyi diye tanımlanan probiyotik bakterilerin ortak özelliklerini maddeler halinde şöyle sıralayabiliriz ("Hayvan Beslemede Probiyotikler" Tarım Bakanlığının Bildirisi 2005).

- Mide ve bağırsak florasında sürekli olarak bulunmalıdır.
- Patojenik ve toksik olmamalı
- İnsan kaynaklı olmamalı, bağırsak florasında izole edilmiş olmalı
- Bağırsak hücrelerine tutunabilmeli
- Bağırsaklarda geçici olarak kolonize olabilmeli
- Doğal bağırsak florası ile uyumlu olmalı
- Antimikrobiyal ürünler üretebilmeli
- Konağa yarar sağlayabilmeli
- Mide asidine, safraya ve lizozim enzimine karşı dayanıklı olmalı, hızlı aktivite olarak yüksek çoğalma oranı gösterebilmeli
- Yem üretimindeki teknolojik işlemler sırasından canlılıklarını koruyabilmeli
- Yem içindeki besin maddeleri ve diğer yem katkılı maddeler ile karıştırıldığında yüksek stabilite özelliği olabilmeli
- Fenotipik özellikleri ve morfolojik yapıları karakteristik olmalı
- Glukozu fermente ederek yoğun laktik asit üretebilmeli
- Farklı ısılarda yaşayabilmeli
- Laktik asit konfigürasyonlarına göre çeşitlenmeli
- Gram-pozitif, sporsuz ve katalaz negatif mikroorganizmalar olmalı
- Sitokinlerden ve nonaerobik solunumdan yoksun olmalı
- Hava toleranslı olmalı
- Asit toleranslı olmalı
- Güçlü fermantasyon özellikleri göstermelidirler.

2.1.3. Probiyotik Bakterilerin Etkinliğini Belirleyen Temel Faktörler

Bu faktörlerin önemi; probiyotik mayaların ürünlerde ve sindirim sisteminde uzun süre kalıcı kalabilmelerini sağlayan faktörler olmasıdır. Bunun için probiyotik bakterilerin etkinliği aşağıda verilen faktörler tarafından belirlenir (Fatih EZGÜ, (2006)).

- Probiyotiklerin mide asidine direnci
- Safra tuzlarına direnci
- Yerel immun mekanizmalarına dayanıklılığı
- Kişinin beslenme alışkanlığı
- Bölgede bulunan diğer mikroorganizmalardan etkilenme derecesi

2.1.4. Probiyotik Mikroorganizmaların Etki Mekanizması

Probiyotiklerin etki mekanizmasına yönelik çalışmalar, bağırsak florası düzensizliğiyle ortaya çıkan gastrointestinal sistemdeki bozukluklara dayanarak yapılmaya başlanmıştır.

1) Patojen ve zararlı bakterilerin sayılarını azaltmak

a. Antimikrobiyal bileşikler üretmeleri
b. Besin elementleri için rekabet etmeleri
c. Kolonizasyon bölgeleri için rekabet etmeleri

2) Mikrobiyal metobolizmayı (enzimatik aktiviteyi) değiştirmek

a. Sindirim sistemini teşvik eden enzimlerin üretimi (örneğin; laktaz)
b. Amonyak, amin veya toksik enzimlerin üretiminin azalması
c. Bağırsak duvarının fonksiyonlarının iyileştirilmesi
d. Organik asitler üreterek (özellikle laktik asit) pH' ı düşürmek suretiyle nötr yada bazik ortamda yaşayan zararlı bakterilerin üremelerini engellerler.
e. Redoks potansiyelini düşürürler, böylece aerobik patojenlerin oksijenden yararlanmalarını engelleyerek gelişimlerini durdururlar.

3) Bağışıklık sistemini iyileştirmek

a. Antikor düzeyinin artmasını ve antikor üretimini düzenler.
b. Makrofaj aktivitesinin artmasını sağlar.
c. Lenfosit aktivitesini yükseltir.
d. Fagosit hücrelerini aktive eder.
e. Antijen spesifik hücrelerini aktive eder.

2.1.5. Probiyotiklerin Aktivitesini Etkileyen Faktörler

Probiyotiklerin etki gösterebilmeleri için mideyi geçip aktif olarak bağırsaklara ulaşmaları gerekir. Normal mide pH'ına dayanıklı olmalarına karşın, yüksek mide pH'ı mikroorganizmaların ölümüne yol açar. Bağırsaklara ulaşanlar villus intestinalislere yerleşerek kolonize olurlar. Etkilerini gösterebilmeleri için bağırsak lümeninde değil bağırsak epitel yüzeyinde kolonize olmaları gerekir. Sindirim kanalında absorbe olmayan bu bakteriler mukozadan salgılanan mukoz madde içinde çoğalarak, mukustaki müsin maddesini enerji kaynağı olarak kullanmakta ve mukoza yüzeyini örten salgı içinde kolonize olmaktadırlar (Dr Fatih EZGÜ (2006)).

Probiyotiklerin 22-25° C ve kuru yerde depolanması, gerekmektedir. Demir ve bakır iyonları başta olmak üzere mineral, yüksek yoğunluktaki vitaminler, antibiyotikler, bazı oksidatif ajanlar ve bazı koruyucu maddelerin bakteriler üzerinde zararlı etkileri vardır.

2.1.6 Probiyotik Bakteri Çeşitleri

Probiyotik bakteriler 10 ana sınıfta incelenmektedir. Bu bakteri sınıfları aşağıdaki tabloda verilmiştir.(Robert Penner, Richard N Fedorak, Karen L Madsen J Nutr. 2006)

Tablo 2.1. Probiyotik bakterilerin başlıca sınıfları

Lactobacillus türleri	*Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus cellebiosis* *Lactobacillus delbrueckii, Lactobacillus lactis* *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus reuteri* *Lactobacillus brevis, Lactobacillus casei* *Lactobacillus curvatus, Lactobacillus fermentum* *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus johnsonii* *Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus helveticus* *Lactobacillus salivarius, Lactobacillus gasseri*
Bifidobacterium türleri	Bifidobacterium adolescentis, Bifidobacterium bifidum *Bifidobacterium breve, Bifidobacterium infantis* *Bifidobacterium longum, Bifidobacterium thermophilum*
Bacillus türleri	*Bacillus subtilis, Bacillus pumilus, Bacillus lentus* *Bacillus licheniformis, Bacillus coagulans*
Pediococcus türleri	*Pediococcus cerevisiae, Pediococcus acidilactici* *Pediococcus pentosaceus*
Streptococcus türleri	*Streptococcus cremoris, Streptococcus thermophilus* *Streptococcus intermedius, Streptococcus lactics* *Streptococcus diacetilactis*
Bacteriodes türleri	*Bacteriodes capillus, Bacteriodes suis* *Bacteriodes ruminicola, Bacteriodes amylophilus*
Propionibacterium türleri	*Propionibacterium shermanii,* Propionibacterium freudenreichii
Leuconostoc türleri	*Leuconostoc mesenteroides*
Küfler	*Aspergillus niger, Aspergillus oryzae*
Mayalar	*Saccharomyces cerevisiae, Candida torolopsis*

2.1.7. Probiyotiklerin Sağlık Açısından Görevleri

- Bağışıklık sistemini güçlendirmek.
- Yiyeceklerin hazmını kalaylaştırmak.
- Vitaminlerin (K vitamini, biyotin, B_{12}, nikotin amid vb) sentezini yapmak.
- Bağırsak duvarını zararlı maddelerden korumak ve bağırsak geçirgenliğini azaltmak.
- Zararlı maddelerin (toksinler) kan dolaşımına geçmesini engellemek.
- Besin allerjilerini ve egzamayı önlemek.
- Kronik enflamatuvar (iltihabi) hastalıkların oluşumunu engellemek.
- Kanseri önlemek.
- Yaşlanmayı yavaşlatmak.
- Depresyonu hafifletmek.
- Otizm bulgularını hafifletmek.
- İshali önlemek ve tedavi etmek.
- İdrar yolu iltihaplarını önlemek.
- Kabızlığı tedavi etmek.
- Böbrek taşlarının (okzalat) oluşumunu azaltmak.

Probiyotiklerin yukarıda maddeler halinde verilen insan sağlığı açısından görevleri vücudun çeşitli bölgeleri için farklı olarak gözlenir. Bu bölgelerin başlıcaları aşağıda başlıklar halinde ele alınarak incelenmiştir (www.gidaraporu.com/gida_probiyotikler-insan-sagligi-onemi.htm).

2.1.7.1. Bağırsak florası bozulması ve sonuçları

Bağırsak florasının bozulmasına neden olan başlıca etkenler; karbonhidratça zengin gıdalar, rafine gıdalar, çeşitli toksinler, antibiyotikler, sezaryen ile doğumlar olarak sayılabilir. Bunlardan sezaryen doğum ve probiyotiklerin ilişkisini biraz açıklamak gereklidir.

Bebekler sezaryenle doğum sırasında vajenden gelen probiyotikler (*Laktobasiller* ve *Bifidobakterler*) ile karşılaşır. Bebek anne sütü ile beslendikçe normal flora gelişir.

Sezaryen ile doğan bebekler anne sütü ile hemen beslenemedikleri için dış ortamda bulunan mikroplar ile karşılaşır ve normal flora oluşamaz. Doğum sonrası ilk kolonize olan floradan sağlıklı floraya geçiş uygun beslenme ortamı meydana getirilse bile oldukça zordur (www.gidaraporu.com/gida_probiyetikler-insan-sagligi-onemi.htm). Probiyotiklerin bağırsak mukozası üzerinde oluşturduğu koruyucu tabakanın ortadan kalkması bağırsak geçirgenliğini artırır. Yeteri kadar sindirilmemiş yiyecek maddeleri ve nötralize edilmemiş toksinler kan dolaşımına geçer. Bağışıklık sistemi yeteri kadar sindirilmemiş protein parçacıklarına karşı aşırı bir şekilde uyarılır. Bu yabancı protein parçacıklarının bazıları vücudun kendi proteinlerine çok benzer. Bağışıklık sistemi aşırı uyarıldığı zaman kendinden olanı yabancıdan ayıramaz. Onu tahrip ederken kendinden olanı da tahrip eder. Bunlara oto immün (öz bağışıklık) hastalıklar denir.

Diyet ile bağırsak florası tedavisi

Un ve şekerden fakir, sebze, meyve, et ve yumurta gibi doğal gıdalardan zengin bir diyet bağırsak florasının koruyuculuğunu artırır. Fermantasyon ürünleri (turşu, yoğurt, peynir, sirke, tuzlama yiyecekler) bağırsak florasında bulunan probiyotikleri arttırırlar. Pastörizasyon, gıdalardaki probiyotikleri büyük ölçüde tahrip eder. Probiyotikçe en zengin gıdalar anne sütü ve yoğurttur.

2.1.7.2. Bağırsak Florasının Bozulmasına Bağlı Hastalıklar

İshal: Yapılan çok sayıda çalışma probiyotik yiyeceklerin ishal tedavisinde son derece başarılı olduğunu göstermiştir. Geleneksel halk tıbbında ishalli kişilere yoğurt verilmesi yaygın bir uygulamadır. Probiyotikler virüs ishallerinde daha etkili olmakta, dizanteri şeklinde ishalleri fazla etkilememektedir.

Antibiyotik ishali: Oral antibiyotik kullananların yaklaşık % 20'sinde bağırsak florasının bozulmasına bağlı olarak ishal gelişmektedir (Etkenler daha çok *C. difficile ve K. oxytoca*). Probiyotikler antibiyotik ishallerinin önlenmesi ve tedavisinde oldukça başarılıdırlar.

Uyarılgan (irritabl) bağırsak sendromu: İrritabl bağırsak sendromu 6 ay ile 4 yaş arasındaki çocuklarda görülen günde 4-10 kez mukuslu ve sulu ishal ile özelleşen bir bağırsak hareket bozukluğudur. Probiyotikler irritabl bağırsak sendromunda ishali azaltmaktadır.

Crohn hastalığı-ülseröz kolit: Crohn hastalığı ve ülseratif kolitin temel nedeninin bağırsakta sağlıklı mikroorganizma dengesinin hastalık yapan mikroorganizma lehine bozulması sonucu gelişen bir reaksiyon olduğu düşünülmektedir. Probiyotikler bağırsakta sağlıklı mikroorganizma dengesini kurarak Crohn hastalığı ve ülseröz kolit bulgularını hafifletebilirler.

Yağ ve protein sindirimi: Süt ürünlerinin içindeki probiyotikler bağırsakta bulunan proteinlerin ve yağların sindirilmesini sağlarlar, yiyeceklerin hazmını kolaylaştırırlar. Proteinlerin en küçük birimlerine (aminoasitler) kadar indirgenmesi (protein hidrolizi) alerjik olayların oluşumunu azaltabilir.

Zekâ geriliği olan (otistik) çocuklarda bağırsak florası: Otistik çocukların çoğunda bağırsak florası bozulmuştur. Bu kişilerde patojen bakteriler, mantarlar ve parazitler aşırı şekilde ürer. Bu patojen mikroorganizmalar yiyeceklerin sindirimini bozarlar ve çeşitli toksinlerin oluşmasına yol açarlar.

2.1.7.3. Kanser probiyotik ilişkisi

Yaygın olarak kullanılan bir probiyotik kaynağı olan yoğurdun antikanserojenik (kanseri tedavi edici) etkilerinin olabileceği gösterilmiştir.

Antikarsinojenik etki: Birkaç laktik asit bakterisi antikarsinojenik ve antimutajenik aktivite göstermektedir. Bağırsaklarda laktik asit bakterilerinin gelişmesi sonucu oluşan laktik asit ve yoğurdun sahip olduğu diğer antibakteriyel özellikler, kalın bağırsakta indol ve skatol gibi fenolik bileşikler üreterek canlı dokuya zarar veren ve hatta kanser başlangıcına neden olan bakterilere karşı engelleyici etkide bulunmaktadır.

Yoğurtta bulunan kalsiyumun, kansere karşı koruyucu özelliği olduğu ileri sürülmüş, ayrıca laktik asit bakterileri tarafından antitümör özellik gösteren bileşiklerin sentezlendiği bildirilmiştir.

L .acidophilus'un tümör hücrelerini inhibe ettiği ve prokarsinojenleri karsinojen maddelere dönüştürebilen mikroorganizmalara karşı antagonistik etkide bulunduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte, probiyotiklerin özellikle kolon kanseri riskini azalttığı hakkında pek çok bilgi bulunmaktadır. Bu bakteriler kolonda fermantasyon ile bütirik asit oluşturmaktadır. Bu madde de kolon kanser hücrelerinde *in vitro* olacak büyümeyi yavaşlatmaktadır.

Başlıca kanser cinsleri ile probiyotik ilişkileri konunun devamında açıklanmaktadır.

Meme Kanseri: Göğüs kanseri kadınlarda en çok görülen kanser çeşididir. Çok güçlü deliller olmamasına rağmen yoğurt gibi fermente süt ürünlerinin kullanılmasının göğüs kanserini azalttığını çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir.

Kalın Bağırsak Kanseri: Kalın bağırsak (kolon) kanseri gelişmiş ülkelerde en çok görülen tümörler arasında ikinci ya da üçüncü sıradadır. Deneysel ve epidemiyoloik çalışmaların birçoğu probiyotiklerin kolon kanserinden korunmada önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Epidemiyoloik çalışmaların birçoğu probiyotiklerin kolon kanserinden korunmada önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Bir bölüm çalışmada ise böyle bir etki gösterilememiştir.

2.1.7.4. İdrar Yolu Hastalıkları

Probiyotikler genital ve üriner sistem enfeksiyonlarını azaltırlar. Probiyotikler bu özelliklerini aşağıdaki mekanizmalar ile sağlarlar;

1. Vajina pH'sının düşürülmesi.
2. Salgıladıklar H_2O_2 ve bakteriyosinlerin bakterileri etkisizleştirmesi.
3. Hastalık yapan bakterilerin mukozaya yapışmasının engellenmesi (yarışmalı inhibisyon).

2.1.7.5. Alerji

Probiyotikler inek sütü allerjisi, atopik egzema ve diğer alerjik hastalıkların profilaksi (korunma) ve tedavisinde başarı ile kullanılmaktadır.

Probiyotiklerle alerji önlenmesinde; probiyotikler bağırsaklardaki koruyucu mukoza bariyerini güçlendirirler; böylece bağırsak geçirgenliğini azaltarak allerjik maddelerin kana geçmesini engellerler. Süt proteinleri tripsin ve pepsin enzimleri yerine probiyotik enzimleri ile parçalanır. Bu nedenle mononükleer hücrelerden sitokin sentezini uyarmazlar. Probiyotikler alfa 1-antitripsin ve tümör nekroze edici faktör düzeylerini düşürerek bağırsaktaki iltihabı baskılarlar. Probiyotikler salgılanan IgA antikor yapımını artırarak mukoza bağışıklığını artırırlar.

2.1.7.6. Romatoid Artrit

Floranın bozularak bağırsak geçirgenliğinde meydana gelen artışın sadece bağırsakta değil bağırsak dışı birçok organda da iltihabi hastalıklara yol açtığı düşünülmektedir. Yeni tanı almış romatoid artritli hastaların bağırsak florasının normal olmadığı saptanmıştır. Probiyotiklerden zengin bir diyetin antiromatizmal ilaç ihtiyacını azalttığı, klinik bulguları hafiflettiği gözlenmiştir.

2.1.7.7. Okzalat Taşı

Bağırsaktan emilen okzalat oranının artmasının (>%5) üriner sistemde okzalat taşı oluşmasının temel nedeni olarak düşünülmektedir. *Oxalobacter formigenes* bağırsakta bulunan okzalatı parçalayarak emilen miktarı azaltırlar. Probiyotik verilen taşlı hastalarda idrardan okzalat atılımının azaldığı gösterilmiştir.

2.1.7.8. Serum kolesterol düzeyinin düşürülmesi

Probiyotik bakteriler ile üretilen fermente süt ürünlerinin veya bu bakterilerin canlı hücrelerinin yenmesi, insanlarda düşük kolesterol düzeyinin oluşması, olası dört faktörden kaynaklanabilir.

- β-glukozidaz enziminin fermente süt ürünlerinde bulunması,
- Bazı bağırsak bakterilerinin yiyeceklerle alınan kolesterolü metabolize ederek kana geçmesini azaltması,
- Bakterilerin bağırsaklarda kolesterol prekürsörlerini veya kolesterolü azaltması,
- Bazı *laktobasillerin* safra tuzlarını parçalamasıyla safra tuzlarının karaciğer tarafından emilmesi engellenir. Böylece safra tuzu absorbe edemeyen karaciğerin, safra tuzu sentezlemek için fazla miktarda serum kolesterolünü kullanması sonucunda serumda kolesterol miktarı azalır

2.1.7.9. Vitamin Üretimi

Probiyotik bakteriler bağırsak florasında yeterli sayıda bulunduklarında, vitamin ve amino asit sentezledikleri belirtilmiştir. Bu bakterilerin ürettiği vitaminlerin en önemlileri, tiamin (B_1), riboflavin (B_2), piridoksin (B_6) ve naftokinin (K) 'dır. Bir araştırmada, *B. bifidum*'un bağırsak florasında bulunduğunda, bağırsaklarda B_6 vitamininin % 400 arttığı belirtilmiştir.

2.2. PROBİYOTİKLERİN GIDALARDA KULLANILIŞI

Süt ve süt ürünlerinde probiyotiklerin kullanımı, insan sağlığı için yararlı pozitif sonuçlar verdiği ve sağlıklı bir mikrobiyal bağırsak dengesini korumaya yardım ettiği için diyet ayarlayıcısı olarak yiyeceklerin içine katılmaktadır. Fermente mandıra ürünleri içinde baskın şekilde yer alan mikroorganizmalar *lactobacillus* ve *bifidobacteria* probiyotik bakterileridir.

Sade ve meyveli yoğurdun örnekleri içinde 10^3 hücre/g veya daha fazla maya popülâsyonlarının 10^7 cfu/ml'yi aşması mümkündür. Mayalar yoğurt kültür bakterilerinin büyümesinden sonra ikincil flora olarak süt içinde gelişebilmektedir. Laktik asit bakterisi süt içindeki laktozun %35 'ini glukoz ve galaktoza hidrolizler. Hücre dışı çevre içinde *streptococcus termophilus* tarafından galaktoz kısmen serbest bırakılırken sadece glukoz laktik asit içinde değiştirilir. Mevcut galaktozun yüksek konsantrasyonun galaktoz varlığında büyümesi için temel bir sebep olduğu yapılan çalışmalar içinde yer almaktadır (Giudici ve P. Masini; (1996), Gerasi vd., 2003; Hynes vd., 2003).

2.2.1. Süt

Süt, kadınların ve dişi hayvanların yavrularını beslemek için memelerinden gelen, besin değeri yüksek beyaz sıvıdır. Ayrıca bazı bitkilerin türlü organlarında bulunan beyaz renkte öz suya ve erkek balığın tohumuna da süt denir.

Sütün bileşimi;

Protein

Süt proteini bütün esansiyel amino asitlerini ihtiva etmektedir. İnek sütlerinde ortalama %3,1 oranında yer alır.

Karbonhidrat - Süt şekeri

Sütün karbonhidratı süt şekeri olarak da adlandırılan laktozdur. Doğada yüksek oranda, yalnız sütte bulunur. Sütü meydana getiren su dışındaki bileşenlerin arasında miktar olarak en fazlası, yani % 37,3'ü süt şekeridir. Süt şekeri gerek sütün ve gerekse süt mamullerinin yapısında ve niteliğinde geniş ölçüde etkisi olan bir maddedir. Yoğurt, tereyağı ve peynir gibi süt mamullerinin işlenmesinde süt şekerinin rolü vardır. Ayrıca çeşitli süt ürünlerinin renginde, besin değerinde, aromasında, hatta yapısında kendini hissettirir.

Sütyağı

Sütün yapısına giren en önemli maddelerden birisi süt yağı veya çoğu kez denildiği gibi süt lipidleridir. Sütte ortalama %3,2 oranında yer alan süt lipidleri süt ve mamullerinin fiziksel niteliklerinde, aromalarında ve besin değerlerinde önemli olan maddelerdir. Süt, diğer hayvansal yağlara göre en düşük kolesterol oranına sahip bir yağdır. Yağsız süt mamullerinde genellikle fiziksel kusurlar görülür. Bu kusurlar çoğu kez aşırı katılık, taneli veya su sızıntılı yapı şeklinde kendini belirtir. Halbuki yağ süt mamullerinde bu özürleri hızla önler. Süt yağı aroma yönünden de diğer yağlarla kıyaslanamayacak bir üstünlük gösterir. Yalnız süt ve mamullerinin değil, aynı zamanda diğer yağların hatta yiyeceklerin tat ve aromalarının iyileştirilmesinde süt lipidlerinin önemi büyüktür. Süt lipidlerinin besin değeri de diğer yağlardan üstündür. Yapısında bulunan A, D ve E gibi önemli vitaminlerin bulunması değerini daha da arttırır.

Sütün bileşimi çeşitli etkenlere bağlı olarak değişiklik göstermekle birlikte, ortalama inek sütünün bileşiminde şunlar bulunur:

- Su % 87,3
- Mineral maddeler % 0,75
- Protein % 3,40
- Laktoz % 4,70
- Yağ % 3,50
- Vitaminler % 0,35

Süt ve yoğurttaki mayalı gelişim biyokimyasal temellerine ve büyüme kinetiğine pek fazla önem verilmemiştir (Roostia ve Fleet,1996), Süt ve süt ürünleri ile ilgili ürünlerin içerisindeki sık maya oluşumları mayaların varlığını sürdürebilirliğini gösterir. ve sütün bileşenlerini metabolize eder laktik asit bakterisi (LAB) glukoz ve galaktozu hidrolize ederek sütün içerisinde buluna laktozun yaklaşık olarak % 35 ini mayalar galaktoz kısmı çoğunlukla *Spreptococus termophilus* tarafından hücre dışı ortama serbest bırakılırken, sadece glukoz laktik aside dönüşür (Good-enough ve Klein1976). Giudici, Massini ve Cagia'nın çalışmalarına galaktozdaki pozitif gelişimin ve yoğurt içindeki mayanın temel nedeni olarak yüksek konsantrasyonlu galaktoz oluşumu gösterilebilir. Düşük pH değerli yoğurt ve mayaların organik asitleri kullanabilme kabiliyeti maya gelişimi için seçici bir ortam yaratır (Fleet ve Mian, 1987).

İlk maya kültüründe maya ihtiva eden süt ürünleri *Aciduphulus*-maya sütü (Lang ve Lang, 1975) kiler, koumis ve labandır. Bunlar sütün, laktik asit bakterisi, mayalar ve asetik asit bakterisi gibi diğer bakterilerden meydana gelen bir karışımla fermentasyonu sonucu üretilir. *Khayveromyces marxianus* ve *Candida pseudotropicalis* gibi laktoz fermentasyonlu mayalar ve Lactobacillus acidophilus'ın bir karışım kültürü ile acidophilus sütü üretebilme olasılığı Subramanian ve Shankar tarafından belirtilmiştir.(1983). *L. acidohilus* gelişimi mayaların mevcudiyetiyle harekete geçirilmiştir. *Bacillus cereus* ve *E. coli, acidophilus* mayalı süt içerisinde varlığını sürdüremez.

2.2.2. Peynir Teknolojisinde Laktobasiller

Peynir üretiminde başlatıcı kültür olarak kullanılan ya da birçok peynir çeşidinin başlatıcı olmayan mikro florasında dominant mikroorganizmalar olarak bulunabilen laktik asit bakterileri önemli rol oynamaktadır. Aynı zamanda *laktobasiller* özellikle çeşitli peynir tiplerinde başlatıcı olmayan mikro floranın önemli bir kısmını oluşturmaktadırlar (Hansen, B.V., Houlberg, U., Ardö, Y. 2001).

Destek kültürler çoğunlukla laktobasillerden oluşan peynirde lezzet oluşumunu hızlandırmak ve peynir lezzetini artırmak amacıyla standart mezofilik starterlere ilave olarak kullanılan ve genellikle ilgili peyniri starter olmayan mikro florasında bulunabilen mikroorganizmalardır. Peynirde bulunan mikroorganizmaları ve bu organizmaların peynir olgunlaşmasına katkılarının bilinmesi uygun olgunlaşma teknolojilerinin geliştirilmesi için gereklidir. Bu temel yaklaşımdan hareketle peynirlerin kalitesinde önemli olan mikro floralarını belirlenmesi ve üretimde buna uygun kaliteyi artırıcı modifikasyonlar yapılmasına yönelik eşitli araştırmalar yapılmaktadır.

2.2.3. Yoğurt Üretiminde Probiyotikler

Probiyotik mayaların son yıllarda yoğurt içerisine katılmasıyla probiyotik yoğurtlar üretilmektedir. Literatürlere göre tüketicilere bir ürünün probiyotik olarak sunulması için üründe mc' deki canlı hücre sayısı 1 milyondan az olmamalıdır ve

tüketim esnasında bu sayının 108-109 seviyesinde olduğu görülmektedir. Yoğurt; çok uzun süreden beri tüketicilerin istediği birçok özelliği sahip olan bir ürün olarak görülmekteydi, içerdiği *L.acidopulus* ve *B. bifidum'* un ekstra besin değeri kattığı bir besin olarak popülerlik kazandı. Fakat bu bakteriler safra asidine karşı dayanıksızdı ve bağırsaklardan geçerken hayatta kalamadıkları için dayanıklı olan probiyotik yoğurt üretimine başlanmıştır (Analie Lourens ve Bennie, 2001).

2.3. PROBİYOTİKLERİN DİĞER KULLANIM ALANLARI

2.3.1. Deniz Ürünlerinde Kullanımı

Dünyada ve ülkemizde su ürünlerine olan talep gün geçtikçe artmaktadır. Besin değeri yüksek olan özellikle deniz balıkları, eklem bacaklı ve kabuklu konusun da son 20 yılda büyük gelişmeler kaydedilmiştir yetiştiriciliği yapılan türlerin daha hızlı kaliteli ve az kayıpla yetiştirilebilmeleri ve pazara sunulabilmeleri için önemli çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Özellikle üretimin önemli bir kısmını tutan yem ve yem maddelerinin geliştirilmesi konusunda büyük araştırmalar yapılmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde ise probiyotikler özellikle üretimi arttırmak için sudaki patojenlerin engellenmesi ve su kalitesinin iyileştirilmesi için kullanılmaktadır probiyotiklerin bu alandaki diğer kullanım amaçları ise şu şekildedir.

a)Kültürü yapılan türün patojonik mikroorganizmalara karşı bağışıklığını gidermek ve besleme düzeylerini arttırmak için

b)Sudaki besin organizmalarının popülâsyonunu arttırmak için kullanılmaktadır.

c)Sudaki toksin maddeleri ayrıştırarak su kalitesini arttırmak için kullanılmaktadır.

2.3.2. Probiyotiklerin Hayvan Besleme Alanında Kullanımı

Probiyotikler uzun yıllardan beri hayvan beslemede verim arttırmaya yönelik uygulamalar çerçevesinde kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra silaj gibi özellikle sığır beslemede çok önemli kaliteli bir kaba yem kaynağının, kalitesinin arttırılması çalışmalarında da kullanılmaktadır.

Probiyotikler hayvanlarda sindirim sistemi ile ilgili bazı hastalıkların korunma ve tedavisinde kullanılmaktadır. Doğal olmaları, hayvana herhangi bir zarar vermemeleri, sindirim kanalından absorbe olmamaları bu konuda antibiyotiklere alternatif olmalarını sağlayan özellikleridir. Enteritis oluşturan pek çok patojen etken antibiyotiklere duyarlı değildir. Direnç gelişimine yol açması nedeniyle antibiyotiklerin tedavide uzun süre kullanılması önerilmemektedir ve ayrıca, virüsler üzerinde de etkili değildir. Tüm bunlar probiyotiklerin önemini arttırmaktadır.

Probiyotikler buzağı ve kuzuların neonatal dönem hastalıklarında, beslenmeye bağlı ishallerde ve çeşitli stres faktörlerine bağlı olarak (sütten kesme, rasyon değişiklikleri, nakil gibi) gelişen sağlık sorunlarında önleyici ve tedavi edici olarak başarılı bir şekilde kullanılabilmektedir.

Buzağılarda saprofit mikroorganizma kültürlerinin kullanımı ile bağırsak mukozalarına ilk önce bu mikroorganizmaların yerleşip kolonize olması sağlanır. Bu durum zararsız lokal etki oluşturarak nonspesifik lokal savunma etkinliklerini (fagositoz, lisozim aktivitesi, antikor salgısı vb.) harekete geçirir. Ayrıca bu mikroorganizmalar birçok patojen etkene (*E.coli, Shigella, Salmonella, Proteus, Vibrio, Pseudomona*s gibi) karşı antagonist tepki göstererek bunların mukozalara yerleşip kolonize olmalarını ve tahribat meydana getirmelerini önlerler.

Probiyotikler kanatlılarda oldukça yaygın olan Salmonella etkenlerine karşı civcivlerde bağırsak florasının gelişimini hızlandırmak suretiyle direnç gelişimi için başarıyla kullanılmaktadır. Bu amaçla ilk uygulama 1976'da, Finlandiya'da yapılmıştır.

Yem katkı maddesi olarak kullanılan diğer biyoteknolojik ürünlerden enzimler ve organik asitler çoğunlukla probiyotik olarak adlandırılan bakterilerden ve mantarlardan elde edilmektedir (Arpacık R (1999), İnal F (2000)).

2.3.3.Kimyasal Madde Üretiminde Kullanılması

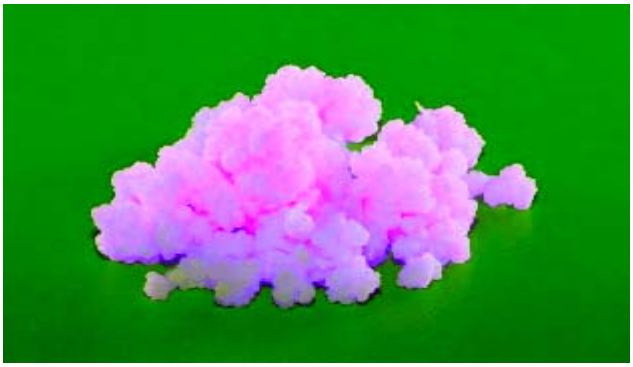
Yapılan çalışmalarda kefirli soya süt ve yoğurtlarında mayalanma süresiyle orantılı olarak toplam çözünür fenolik bileşiklerin ve antioksidan maddelerin artış

gösterdiği ve bu bileşiklerin metabolizma reaksiyonlarını katalizleyen fenolazlar ve antioksidazlar gibi enzimlerin aktivitelerinin de arttığı tespit edilmiştir (Murat Pınar, 2002).

2.3.4. Kompleks Bir Probiyotik Kefir

Kefir birden fazla probiyotik bakterinin bir arada bulunduğu ve yaşadığı faydalı bir kültürdür.

Probiyotiklerin insan sağlığı açısından öneminin bilinmesiyle birlikte ticari pazarda da fonksiyonel gıdalara olan ilgi artmaktadır. Bu sayede yüzyıllardır Kafkaslarda bu amaçla kullanılan probiyotik kökenli gıda olan kefirin de önemi artmıştır. Kefir, çok eski yıllardan beri özellikle Kafkasya bölgesinde yapılan, bugün ise Avrupa ve Amerika ülkelerinde ticari maksatla imal edilen süt asidi ve alkol fermentasyonu yardımıyla yapılan köpüklü, koyu kıvamlı, ekşimsi bir içkidir. Kefir, beyaz renkte, karnabaharı andırır şekilde ve genellikle bezelye veya fındık büyüklüğünde tanelerden meydana gelmiştir



Şekil 2.1. Fermentasyonla çoğaltılmış kefir taneleri (www.kefirtanesi.com)

İçerdiği Bakteri Çeşitleri

Kefir tanesinde; *Torula mayaları, Sacharamyces sp., Streptococcus cremoris, Betabacterium sp.* gibi mikroorganizmalar bulunur. Bunların faaliyeti sonucu süt asidi,

etil alkol ve karbondioksit meydana gelir. Kefir tanesi içerisinde bulunan mikroorganizmalardan bazıları süt şekerini parçalayarak süt asidi oluştururlar ve süt pıhtılaşır. Mikroorganizmalardan bazıları ise karbondioksit ve etil alkol meydana getirirler.

Fermantasyon sonucu ***kefir*** adı verilen hafif ekşimsi, köpüklü, alkollü ve yoğurt kıvamında bir süt içkisi ortaya çıkar. Kefir yapımında inek, koyun, keçi, manda sütleri yağlı veya yağsız olarak kullanılabilir.

Çeşitli yayınlarda kefirin iştahsızlık, uykusuzluk, verem ve böbrek hastalıklarında, bronşit ve astımda, egzama tedavisinde kullanıldığı belirtilmektedir. Ancak bazı hastalarda tam tersi olan sonuçlar oluşmakta ve içerdiği çeşitli mayalar ve alkolden dolayı zararlı olmaktadır. Kalp hastalarına ise, içindeki yüksek karbondioksit miktarı sebebiyle kefir içmeleri tavsiye edilmektedir. Tablo 2.1 de kefirin kimyasal bileşimi verilmiştir.

Tablo 2.2 Kefirin kimyasal bileşenleri

Kefirin bileşimi	
Su	% 88-89
Süt asidi	% 0,8-0,9
Etil alkol	% 0,6-1,1
Süt şekeri / laktoz	% 1,7-2,7
Kazein	% 2,5-2,9
Mineraller	% 0,6-0,8
Albümin	% 0,1-0,3
Yağ	% 2,8-3,3

Kefirin sağlık üzerine etkileri

İçimi ve hazmı çok kolay olan kefir hücre yenileme özelliğine sahiptir. Mucize içecek kefir özellikle bağırsaklardaki maddelerin birleşmesini önlediğinden ömür uzatıcı

olduğuna inanılır. Protein, yağ, laktoz ve mineraller bakımından hayli zengin ilaç tedavisi kesilmeden kullanıldığı zaman kandaki kötü kollestrolü azaltır, tansiyonu düşürür, idrarı sulandırır, vücuttan atılması gereken maddelerin gidişini kolaylaştırıyor, bağırsak hareketlerini hızlandırıyor, bulaşıcı, sarılık, eklem hastalıkları, ishal, kabız, kan kaybı, doğum sorunları, şeker düşürüyor ve en önemlisi kanseri geciktiriyor. Hazmının kolay, proteince zengin oluşu nedeni ile hastalar ve çocuklar için önemli bir besindir (SEZGİN 2004).

Ayrıca yapılan araştırmalarda kefirin kadın ve erkeklerde cinsel gücü arttırdığı da bildirilmiştir. Hücre yenileme sayesinde de kadınlar tarafından cilt maskesi olarak kullanıldığı da bilinmektedir.

Kefir tümör oluşumunu engellemekte ya da var olanın ilerlemesini azaltmaktadır. Kefir içindeki mikroorganizmalar bol miktarda vitamin (K vitamini, B_1 vitamini, pantotenik asit, niasin, folik asit, B12, ve biyotin) sentezi yaparlar. Kefir mikroorganizmalarının ürettiği biyotin diğer B kompleks vitaminlerinin emilimini de artırır. Kefirin içinde bulunan özel bir madde nedeniyle kronik hepatit, mültipl skleroz hastalıklarda tedavi edici niteliğe sahip ucuz ve doğal bir seçenektir.

Kefir İle Yoğurdun karşılaştırılması

Her ikisi de sütün fermentasyonu sonucu elde edilir. Yoğurtta hem probiyotik bakteriler hem de prebiyotik besinler vardır yani probiyotiklerin üremesini artırır. Kefir probiyotiktir. Yoğurtta mikroorganizma olarak sadece *bifidobakterler* ve *laktobasiller* bulunur. Kefirde ise bunlara ilaveten *Lactobacillus Caucasus*, *Leuconostoc*, *asetobacter* ve streptokok gibi bakteriler ile *Saccharomyces* kefir ve *Torula* kefir gibi mantarlar bulunur. Kefir laktoz intoleransı olan kişiler için ideal bir içecektir. Kefirdeki bakterilerin ürettiği laktaz süt şekerini sindirir. Kefirin laktozu düşürme özelliği yoğurttan fazladır. Çünkü yoğurta sadece ki probiyotik (*L. bulgaricus and S. thermophilus*) varken kefirde kırkın üzerinde probiyotik bulunur. Kefir iki kere mayalanırsa mevcut laktoz düzeyi sıfıra yaklaşır (Prof.Dr. AYDIN 2006).

Kefirin elde edilmesi

Kefirin bileşimine ve duyusal niteliklerine etki eden faktörler başlıca; kefir tanesinin mikro florası, uygulanan üretim yöntemi, kullanılan sütün cinsi ve temizlik koşullarıdır. Kefirin fermantasyonu sırasında oluşan olayları şöyle özetleyebiliriz (18.Karagözlü, C. 1990). Farklı ısıl işlem uygulanmış inek sütlerinden kefir kültürü ve tanesi ile üretilen kefirlerin dayanıklılığı ve nitelikleri üzerine araştırmalar (E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Süt Teknolojisi Anabilim Dalı. Yüksek Lisasns Tezi.Bornova - İzmir);

1. Laktozdan laktik asit oluşumu (Laktik asit fermantasyonu).

2. Laktozdan etil alkol ve karbondioksit oluşumu (Alkol fermantasyonu).

3. Kefire özgü tipik mayayı andırır kefir aroması oluşumu.

4. Sınırlı ölçüde proteinin, pepton ve aminoasitlere parçalanması

Kaynatılan süt 20 -25 °C ye soğutulur. Kefir, paslanmaz çelik veya cam bir kavanozda yapılmalıdır. Bakır, alüminyum tencere kesinlikle kullanılmamalıdır. İçerisine %3 -5 oranında (1 kilo süte 30 -50 gram kefir tanesi) kefir tanesi ilave edilir. Ağzı hava alacak fakat toz, sinek v.s. girmeyecek şekilde kapatılır. 20 - 25 °C de yaklaşık 18 - 24 saat süren fermantasyon sonucu kefir oluşur. Bu sırada kefirin pH sı 4,7 civarındadır. Bu süre içinde kabın arada bir karıştırılması faydalıdır. Fermantasyon sonunda kefir temiz bir süzgeç ile süzülür. Süzgeçte kalan kefir taneleri tekrar kaynatılıp soğutulan süte atılır ve yeniden kefir üretmek için kullanılabilir. Süzüntü buzdolabında bir süre bekletilip olgunlaştırılır, daha sonra tüketilir (Karagözlü, C. 1990. Farklı ısıl işlem uygulanmış inek sütlerinden kefir kültürü ve tanesi ile üretilen kefirlerin dayanıklılığı ve nitelikleri üzerine araştırmalar (E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Süt Teknolojisi Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. XVI Sf. İzmir 2000).

Kefir taneleri devamlı süt içinde geliştiğinde çoğalarak bölünürler ve her geçen zaman daha fazla süte ihtiyaç duyulur. Ya da bu kefir taneleri isteyene verilebilir. Diğer yandan en az 5 -7 gün kefir üretilmeyecekse kefir taneleri kaynatılıp soğutulmuş su ile

yıkanarak ve buzdolabında temiz bir kavanozda su içinde saklanmalıdır. Eğer kefir tanelerini 15 günden fazla kullanılmayacaksa tanelerin bulunduğu kavanozun buzdolabının buzluğuna kaldırmak gerekir. Yeniden kefir üretileceği zaman buzlukta duran kefirin kullanımdan önce % 25 – 30 oranında süte katılarak eski aktifliğine ulaşması sağlanır.

Kefir yapımında en çok rastlanan hatalar 20 – 25 °C den daha sıcak süt ile fermantasyona bırakmak ve fermantasyonu uzun tutmaktır.

Kefir üretiminde temiz ve hijyenik bir ortam sağlanmaması sonucu kefir tanesine yabancı mikroorganizma bulaşması (Bunun sonucu kefirde fazla gaz ve köpürme, serum ayrılması, farklı ekşilik gözlenir). Kefir üretiminde kullanılacak sütün yeterince kaynatılmaması, fermantasyonun bakır, alüminyum veya toprak tencerelerde yapılması gerekir.

2.4. PREBİYOTİK

Vücudumuz için yararlı olan mikroorganizmaların beslenmesi için prebiyotikler gereklidir. Bağırsaklarda bulunan floranın desteklenmesi için probiyotik almak ve prebiyotik tüketerek bağırsaklarda varolan yararlı bakterilerin çoğalmasını sağlamak olmak üzere genellikle iki yol vardır. Prebiyotikler vücudumuza yararlı bir veya daha fazla türden mikroorganizmanın çoğalma ve/veya aktivitesini seçici olarak arttıran ve sindirilmeyen besin bileşenleridir. Böylece sağlıklı olma halinin devamlılığı için "bağırsak bakterilerinin manipülasyonu" yaklaşımı ortaya çıkmış ve diyetle bağırsak florasının manüplasyonu bu gün için beslenme biliminin en popüler uğraşı alanlarından biri haline gelmiştir. Bir besin bileşeninin prebiyotik özellik taşıyabilmesi için aşağıdaki özelliklerinin olması beklenir.

– Sindirime dirençli olmalı,

– Kolon mikroflora bakterileri tarafından hidrolize edilmeli

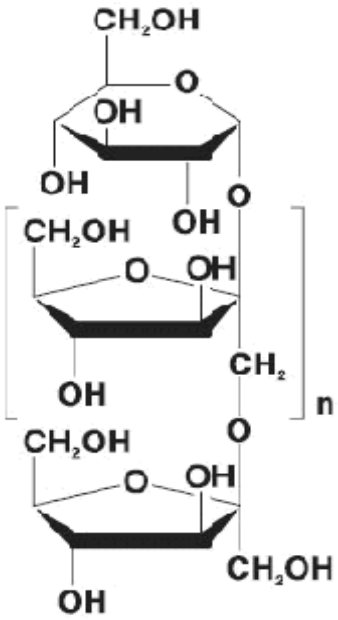
– Bir veya kısıtlı sayıda olmak üzere daha çok bakterinin çoğalmasını stimüle etmeli

– Konakçının sağlığı üzerinde olumlu etkileri olmalı.

Probiyotik kavramının ortaya çıkışında Bulgar köylülerinin uzun yaşamlarının fermente süt ürünleri tüketimine bağlanması nasıl rol oynamışsa, prebiyotik kavramının

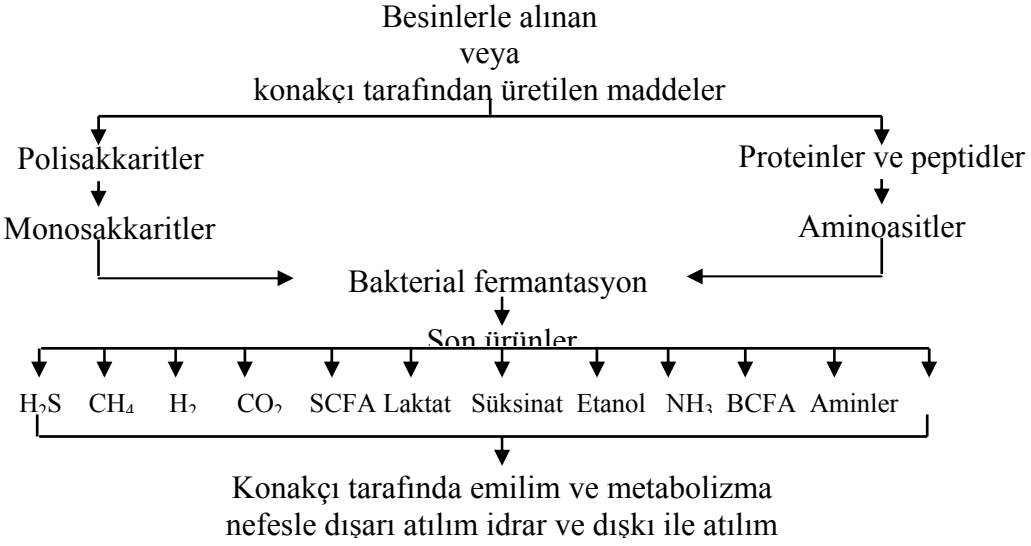
ortaya çıkışında da yaşam süresinin uzun olduğu bazı toplumlarda diyetle alınan kısa zincirli frukto-oligosakkaritlerin tüketiminin yüksek olduğunun bulunması rol oynamıştır.

Tip, dizi ve içerdikleri monosakkaritleri farklı (glukoz, fruktoz, ksiloz ve galaktoz) prebiyotikler vardır. İnülin ve oligofruktoz en yaygın olarak kullanılır (Şekil 2.2). Hindiba (*Cichorium intybus*) ve enginar prebiyotikten zengindir. Hindibada %15-20 inülin ve %5-10 oligofruktoz bulunmaktadır. Besinlerin çoğunda bulunan inülin hindiba kaynaklıdır ya da sukrozdan sentez edilmektedir. Oligofruktoz ise inülinin kısmen hidrolize edilmiş şeklidir. Buğday, arpa, çavdar, soğan, sarmısak, muz, kuşkonmaz ve pırasa da diğer prebiyotik kaynaklarıdır.



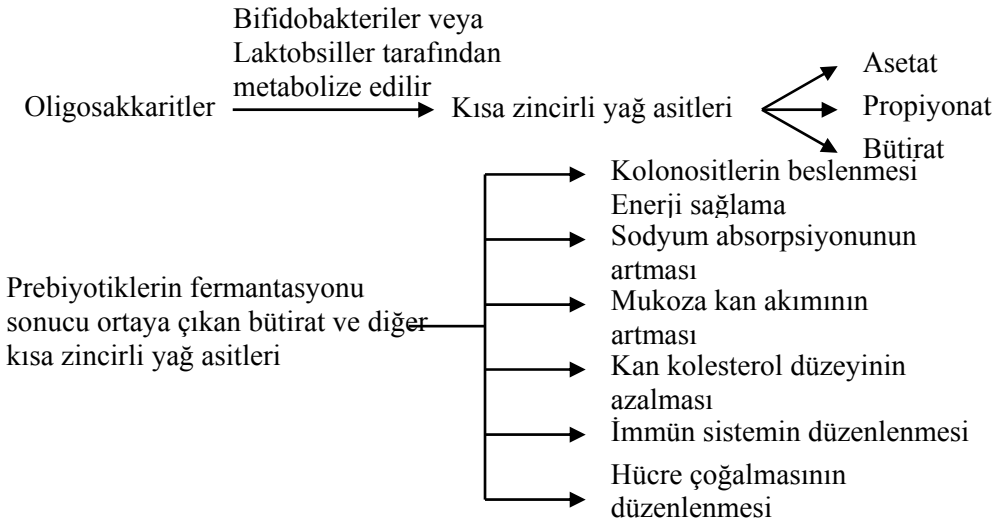
Şekil2.2: Bir prebiyotik prototipi olan inülinin yapısı(Turhan Çoşkun 2006)

Kolona değişikliğe uğramadan ulaşan prebiyotikler, bakteriler tarafından hidrolize edilir. Hidroliz işlemi özellikle *Bifidobakteriler* tarafından gerçekleştirilir ve bu işlem için betafruktofuranozidaz enzimine gereksinim vardır. Fermentasyon işlemi sonunda kısa zincirli yağ asitleri, organik asitler ve kısa zincirli karboksil asitler ortaya çıkışı Şekil 2.3 te şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.3 İnsan kolon florası tarafından fermentasyon. H_2S: Hidrojen Sülfür, CH_4: karbon terraklorür, H_2O: Hidrojen, CO_2: Karbondioksit, SCFA: Kısa zincirli yağ asitleri, NH_3: Amonyak, BCFA: dallı zincirli yağ asitleri

Kısa zincirli yağ asitlerinin sağlığımız açısından çeşitli yararlı etkileri vardır. Bağırsak pH'sını düşürür, bu ortamda mineral, özellikle de kalsiyum emilimi daha iyi olur. Asit ortamda yararlı mikroorganizmalar çoğalabilirken, patojen mikroorganizmalar çoğalamaz. Kısa zincirli yağ asitleri bağırsak epitel hücreleri için de enerji kaynağıdır.



Şekil 2.4 Oligosakkaritlerin bağırsak bakterileri tarafından fermantasyonu sonucu ortaya kısa zincirli yağ asitleri ve bunların sağlığımız üzerindeki olumlu etkileri

Kısa zincirli yağ asitlerinin her birinin (propiyonat, asetat ve bütirat) ayrı işlevleri vardır (Şekil 2.4). Propiyonik asit, hepatik yağ asidi sentezini inhibe ederek serum LDL düzeylerini düşürür. Asetat kuvvetli bir asit olduğundan bağırsak pH'sını düşürür. Bütirat ise kolon hücrelerinin yakıtıdır, kanserli hücrelerin çoğalmasını baskılayarak kolon karsinogenezini etkiler.

Bu fermantasyon ürünlerinin gaz, karında gurultu ve kramp gibi yan etkileri de görülebilir.

İnülin ve oligofruktozun lif etkisi de vardır. Kolonda sıvı hacmini arttırır, dışkı kütle ve ağırlığında artış olur. Her bir gram oligofruktoz, dışkı ağırlığında 1.3 gr, her bir gr inülin ise 2 gr ağırlık artışına neden olmaktadır. Kolon kanseri gelişme riski ile dışkı ağırlığı arasında ters bir ilişki olduğundan bu etki yararlı sonuçları olan bir etkidir.

2.4.1. Prebiyotiklerin Kimyasal Yapısı

Oligosakkaritler 2–20 sakkarit uzunluğunda şekerlerdir. Bitki ve sebzelerde doğal olarak bulunan oligosakkaritler dışında bazıları polisakkarit hidrolizi veya enzimatik reaksiyon sonucu elde edilir.

Prebiyotik özellik taşıyan bileşikler arasında: İnülin, laktuloz, frukto-oligosakkaritler, galakto-oligosakkaritler, soya oligosakkaritleri, laktosukroz, izomalto-oligosakkaritler, gluko-oligosakkaritler, ksilo-oligosakkaritler, platinoz, gentio-oligosakkaritler sayılabilir.

Anne sütünde 130'dan fazla çeşitte oligosakkarit bulunmaktadır. Kolostrumdaki oligosakkarit konsantrasyonu 15–23 gr/L, geçiş sütü ve matür sütte ise 8–12 gr/L'dir. Anne sütü oligosakkaritlerinin %75-85'i nötral, %15-25'i asidik oligosakkaritlerdir

2.4.2. Prebiyotiklerin Sağlığımız Üzerindeki Olumlu Etkileri

Prebiyotiklerin yararlı etkileri arasında; patojen bakteri çoğalmasını inhibe etmesi, laksatif etki yapması, ishal gelişme riskini ve kolon kanser gelişme riskini azaltması, mineral absorpsiyonunu arttırması, serum trigliserid düzeylerini, hayvan deneylerinde postprandial glukoz ve insülin düzeylerini düşürmesi sayılabilir.

Prebiyotiklerin kolon mikroflorası, immün fonksiyonlar, mineral biyoyararlanımı, lipid metabolizması üzerinde yararlı ve kolon karsinogenezini önleyici etkileri vardır.

Oligosakkaritler kendileri hücre yüzey reseptör analoğu gibi hareket eder, patojen mikroorganizmaları kendisine bağlayıp dışkı ile atılmasını sağlar.

2.4.3. Mineral Biyoyararlanımı Üzerine Etkileri

Deney hayvanlarından elde olunan sonuçlar inülin, oligofruktoz, gluko-oligosakkarit ve galakto-oligosakkaritlerin özellikle kalsiyum ve magnezyum emilimini arttırdığına işaret etmektedir. Büyük olasılıkla demir ve çinko emilimini arttırıcı etkileri de vardır. Oligofruktoz alımı ile birlikte femur ve tibiada kemik dansitesi artmaktadır. Bu sonuçların insanlar için genellenmesinde dikkatli olunmalıdır. İnsanlarda prebiyotiklerin kalsiyum emilimindeki yararlı etkisi gösterilmiştir. Ancak demir, magnezyum ve çinko emilimi üzerindeki etkileri konusunda kuvvetli deliller yoktur. İnsanlarda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar alınmasında farklı türden, farklı dozda ve farklı sürelerde prebiyotik kullanımı ve farklı miktarlarda kalsiyum tüketiminin rolü vardır

Prebiyotiklerin kalsiyum emilimini nasıl arttığı konusunda değişik mekanizmalar ileri sürülmüştür. Fermentasyon sonunda ortaya çıkan asidik maddeler kolonda pH'yı düşürüp, kalsiyumun emilimini arttırmaktadır. Bitkisel besinlerde bulunan fitatlar kalsiyumu bağlamaktadır. Fitatların fermentasyonu ile daha fazla kalsiyum serbest hale geçmektedir. Kısa zincirli yağ asitlerinin bulundurduğu proton lümene verilerek kalsiyumun emilimi sağlanmaktadır.

2.5. PROBİYOTİK VE PREBİYOTİK ARASINDAKİ İLİŞKİ

2.5.1. Simbiyotik ilişki

Probiyotik ve prebiyotikleri birlikte bulunduran besin veya destek amaçlı kullanılan ürünlerdir. Probiyotiklerle birlikte yakıtı olan prebiyotikler verildiğinde daha uzun süre canlı kalacakları varsayılmaktadır. Prebiyotik ve probiyotiklerin etkilerinin aynı yönde artırıcı olacağı düşünülmektedir. Halen sinerjistik etkiyi destekleyen

bilimsel kanıtlar yoktur. Ancak başlangıç aşamadaki çalışmaların sonucu ümit vericidir. Prebiyotikler probiyotiklerin gelişmesi için besin kaynağı olarak kullanılırlar. Ve probiyotiklere uygun gelişme ve üreme ortamı sağlarlar.

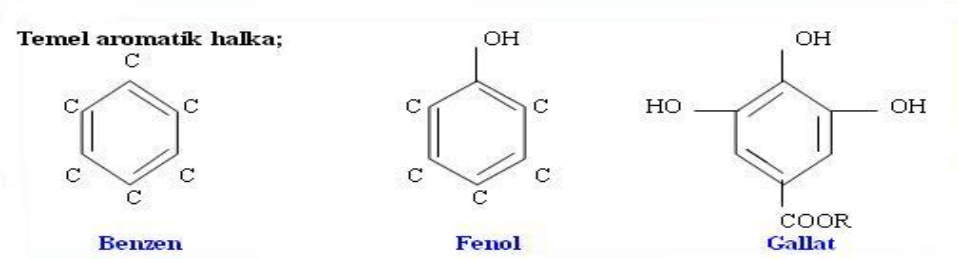
Probiyotik + prebiyotik = Simbiyotik

2.6. AROMATİK BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ

Aromatik bitkilerin antioksidan aktivitesi yapılarındaki fenolik bileşiklerle ilişkilidir (Skerget vd 2005). Bu bileşikler içerisinde en fazla bulunanları flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik terpenlerdir (Javanmardi veark., 2003). Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi,serbest radikalleri temizleme (Rice-Evans ve ark., 1995;Pekkarinen ve ark., 1999), metal iyonlarla bileşik oluşturma (metal şelatlama) ve singlet (tekli) oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma (Rice-Evans veark.,1995) gibi özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bu bileşikler, lipitlerin ve diğer biyomoleküllerin (protein, karbonhidrat, nükleik asitler) serbest radikallerce okside olmalarını engellemek için aromatik halkalarındaki hidroksil gruplarında bulunan hidrojeni verebilmektedirler (Burda ve Oleszek, 2001). Flavonoidler ve diğer fenolik bileşikler çoğunlukla bitkinin yaprak, çiçek ve odunsu kısımlarında bulunmaktadır (Kähkönen ve ark., 1999). Bu nedenle, genellikle aromatik bitkiler yaprak ve çiçek kısımları kurutularak drog halinde (Baytop, 1999) ya da ekstraksiyon, destilasyon gibi yöntemlerle elde edilen uçucu yağ ekstraktları şeklinde kullanılmaktadır (Botsoglou ve ark., 2003a). Aromatik bitkilerin kimyasal bileşimi birçok etmene bağlı olarak farklılık gösterdiğinden, antioksidan etkileri de değişebilmektedir.

2.6.1. Fenolik Maddeler

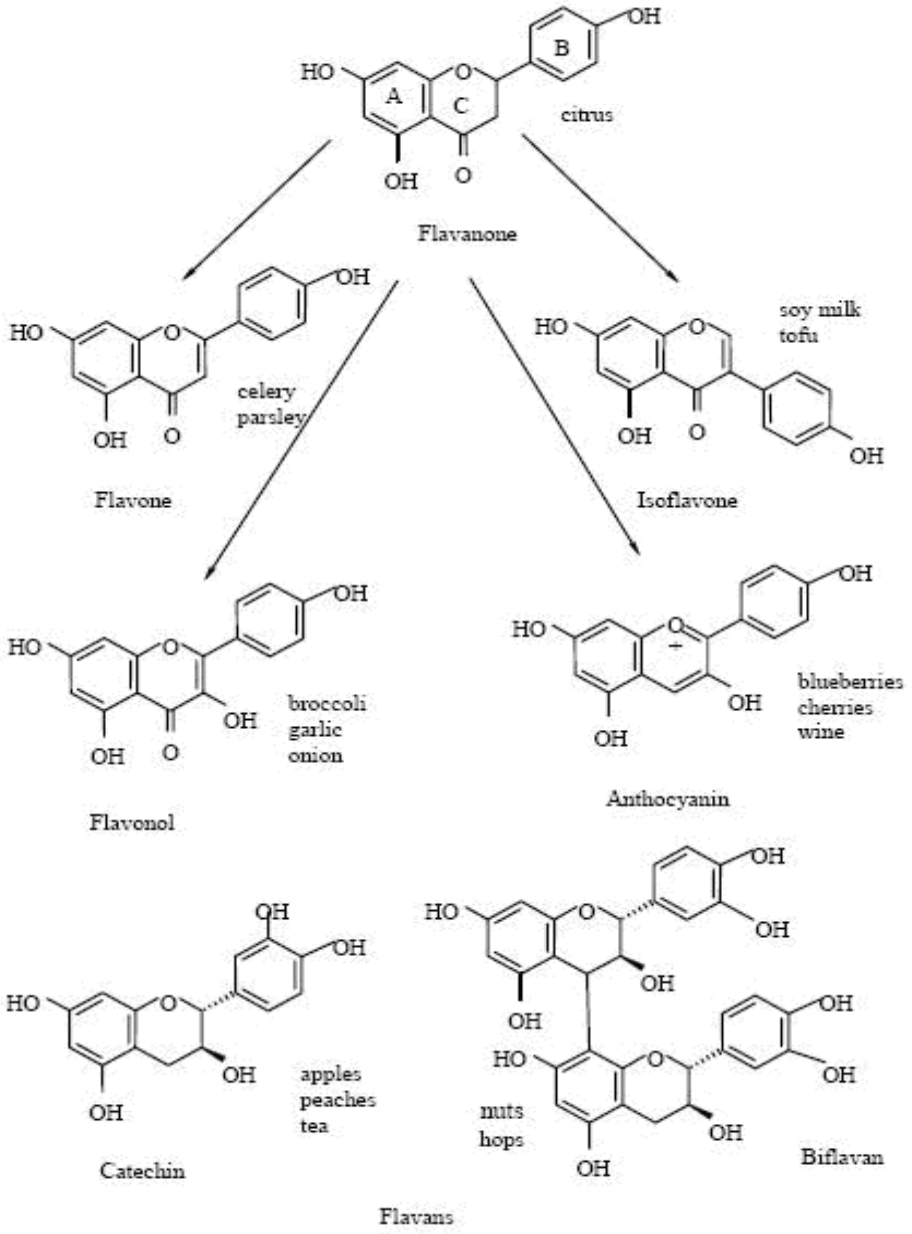
Fenoller, oksijenli aromatik bileşiklerden olup, bir veya daha fazla hidroksil (OH) grubu taşıyan en az bir aromatik halkaya sahip organik ve kristal yapıda ki maddelerdir. Suda orta, organik çözücülerde (alkol, eter vb.) iyi çözünür. Çok zehirlidir, cilde değmesi durumunda yanıklar meydana getirirler. Seyreltik çözeltileri dezenfektan olarak kullanılır. Birden çok polimerin (polifenoller, flavonoidler vb.) çıkış maddesidir.



Şekil 2.5 Temel aromatik halkalar(Peterson ve Dwyer 1998)

Flavonoid'ler; üç karbonlu zincir ile bağlı iki benzen halkasını içeren C6–C3–C6 iskeletinde bileşiklerdir. Flavonoidler kırmızı, mavi, pembe bitki pigmentleri, antosiyaninler, sarı antonsaktinler ve renksiz kateşinler'den oluşurlar. Diğer bir ifade ile bu bileşiklerin oluşturduğu sınıfın genel ismidir.

Flavonoidler bitkileri UV ışınlarına ve mikroorganizmalara karşı korurlar. Bitkilerin bol ve kısa dalga boylu güneş ışığına rağmen gelişmeleri bu pigmentleri çok fazla miktarda sentezlenmesiyle mümkün olabilmektedir. Güneş ışınlarının etkisi ile, bitki yaprak ve dokularında fenolik maddeler'inde sentezlenmesini sağlayan fotomorfogenez reaksiyonları başlar. İnsanlarda flavonoidler, bağışıklık sistemini güçlendirir ve kalp krizi riskini azaltır. Bitki hücre ve dokularında basit fenolik bileşiklerin önemli bir kısmı, fenolik asitler ve fenilpropanoidlerin sentez yollarının ara ve son ürünleridir (Şekil.2.6).



Şekil 2.6 Temel sınıftaki Flavonoidlerin yapısı (Peterson ve Dwyer 1998)

Fotomorfogenez adı verilen reaksiyonda; "fitoensintaz (PSY)" adı verilen bir enzim işlev görür. Işık etkisi altında devreye giren bu enzim, hücrede klorofil ve karotenoid miktarını arttırarak, fotosentez görevi görebilecek bir organelin (kloroplast) oluşmasını kontrol eder. Karotenoid biyosentez mekanizmasının ilk enzimi olan PSY, çoğunlukla enzim reaksiyonlarını da arttırır. PSY 'nin bu şekilde ışığa bağımlı oluşu, klorofil biyosentezinde görevli olan "protoklorofillid oksiredüktaz (POR)" enziminde de görülür. Hiçbir hücre, potansiyel olarak içermediği bir özelliği, normal şartlar altında bir anda göstermeye başlayamaz.

Fenolik maddeler bitki türlerini tanımlama ve sınıflandırma amacıyla kemotaksonomik çalışmalarda kullanılmaktadır. Bitkilerin sekonder metabolizma ürünlerinden olan flavonidlerden antosiyaninlerin çiçek ve meyve pigmenti olduğu, polimer fenoller olan ligninlerinde hücre duvarında yapı materyali olarak görev yaptığı bilinmektedir. Antosiyaninler ve kondanse tanenleri içerisine alan flavonoidler, fenilpropanoid sentezi sırasında oluşan *p-kumaric asitten* meydana gelir. Flavonoidlerin diğer bir grubu da hidroliz olabilen gallik asit ve türevleri doğal ortamda şikimik asit sentez yoluyla sentezlenir. Burada; *L-fenilalanin ammonia lyase (PAL)* flavonoidlerin biyosentezini kontrol eden anahtar enzimdir. Gün uzunluğunda ki artış ile (yaz mevsiminde) bu enziminde aktivitesi artar.

Çay yaprağının önemli bir bölümünü polifenoller oluşturur. Bunların başında kateşin, flavon, gallik asit ve depsides gelir. Çayın rengini veren pigmentler, klorofil ve karotenoidlerdir. Çayda kateşin ve türevleri, gallik asit ile esterleşme sonucu oluşmaktadır. En bol bulunan Epigallokateşin gallat 'tır.

Ester ve esterleşme; bir karboksilik asidin (R–COOH) bir alkol veya bir fenol'le tepkimesi sonucu su kaybı ile meydana gelen kimyasal bileşik esterdir. Ayrılan suyun hidroksilini (OH alkolden değil fenol'den alması esterleşmedir. Özellikle halka yapısına sahip karboksilik esterler UV (kısa dalga boylu, ultraviole ışınlar) ışınlarını absorblamazlar.

2.6.2. Antioksidan Özellikleri

Antioksidan veya yükseltgeme önleyici, yağların otoksidasyonunu yavaşlatan maddedir. Canlılarda, kimyasal süreçler (prosesler), özellikle oksitlenme, serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Yüksek derecede reaktif olan serbest radikaller farklı moleküller ile kolayca reaksiyona girebilir ve böylece hücrelere, canlıya zarar verebilir. Antioksidanlar serbest radikallerle reaksiyona girerek (onlarla bağ kurarak) hücrelere zarar vermelerini önler. Bu özellikleriyle hücrelerin anomalileşme ve sonuç olarak tümör oluşturma risklerini azalttıkları gibi, hücre yıkımını da azalttıkları için, daha sağlıklı ve yaşlılık etkilerinin minimum olduğu bir yaşam şansını yükseltir.

2.6.2.1. Antioksidanların Tarihi

Sentetik, antioksidanların gıdalardaki kullanımı 1940'lı yıllarda ters-butil-4-hydroksianisol BHA ve gallik asidin esterlerinin oksidasyonu önlediklerinin anlaşılmasıyla başlamıştır. Demir ve bakır gibi geçiş metallerinin zararlı etkileri sitrik asit (CA), etilendiamintetraasetikasit (EDTA) veya onların türevlerine metal deaktivatör veya kelat ajanı olarak etki ettikleri ondan sonra bulunmuştur. 1954'te ABD'de BHA'nin gıdalarda kullanılmasına müsaade edilmiştir. Tersiyer bütil hidrokinon (TBHQ) 1972'de ticari ölçüde kullanılmaya başlamıştır. Sentetik antioksidanların muhtemel karsinojenik etkileri büyüyen bir tepkiye neden olmaktadır. Böylece Japonya ve çok sayıdaki diğer ülke BHA'nın gıdalarda kullanılmasına izin vermemektedir. TBHQ'nun da Kanada, Japonya ve Avrupa ülkelerinde kullanımına izin verilmemektedir. Bu yüzden sentetik antioksidanların yerine doğal antioksidanların kullanımı için genel bir istek mevcuttur.

2.6.2.2. Antioksidan Türleri

Antioksidan özelliği keşfedilen birçok farklı madde vardır. Bu maddelerin bir kısmını diyetimizde (özellikle bitkilerden) alırken, bir kısmını vücut kendisi, serbest radikallere karşı bir savunma sistemi olarak üretir. Vücudun serbest radikallere karşı savunma olarak ürettiği antioksidanlar; katalaz, glutatyon peroksidaz, ve SOD (superoksit dismutaz) gibi enzimlerdir. En büyük antioksidan türü E vitaminidir.

Alfa tokoferol (E Vitamini) - E vitaminleri içinde alfa, beta, gama ve delta tokoferolleri bulunur. Bunların içinden özellikle Alfa tokoferol önemli bir antioksidandır. Özellikle buğday, mısır, darı, pirinç gibi tahıllarda çok bulunur. Bunun dışında ayçiçek yağı, mısırözü yağı, pamukyağı gibi yağlarda, ceviz, badem ve yerfıstığı gibi kuru yemişlerde ve yeşil sebzelerde bulunur. E vitamini aynı zamanda pişirmeye ve sıcağa dayanıklıdır, böylece pişirilme esnasında tahrip olmazlar. E vitamini dışında farklı maddelerde bulunan tokoferoller ise rahatça tahrip olabilir. Fakat yağda kızartma ve tahılların öğütülmesi esnasında E vitaminleri de tahrip olur ve çoğu bozunur. Bu yüzden E vitamini ihtiva eden ürünleri yağda kızartmadan pişirmek ve özellikle beyazlatılmadan geçmemiş tahıl ürünlerini (kepekli ürünler gibi) tüketmek daha akıllıca

ve sağlıklı olur. Fakat E3 vitamini (Tokoli veya İlatokoferol), E1A gibi tahılların öğütülüp yağda kızartılmasında yok olmaz, ama azı veya yarısı da yok olabilir.

Beta-karoten - vücutta depolanarak A vitaminine de dönüştürülen bu kırmızımsı-turuncu pigment çok güçlü bir antioksidandır. Güçlü bir antioksidandır ve birçok kanser türüne yakalanma riskini azaltmasıyla ünlüdür. Havuç, ıspanak ve brokoli gibi yeşil yapraklı sebzeler ile kayısı ve şeftali gibi meyvelerde fazlasıyla bulunur.

Flavonoid - Birçok meyve ve sebzede yüksek oranlarda bulunan sarı-beyaz pigmentlerdir. Bitkilerin çoğunda bulunan bu antioksidan, yine antioksidan olan C ve E vitamininden çok daha fazla miktarlarda bulunduğu için özellikle meyve ve sebze ağırlıklı bir diyet ile vücuda fazla miktarlarda alınabilir. Elma, çilek, üzüm gibi meyveler, çikolata ve özellikle çay belli oranlarda flavonoid ihtiva eder.

Koenzim Q Özellikle kanser ve belli nörolojik hastalıklara olan pozitif etkileriyle uzun süredir gündemde olan koenzim Q önemli bir antioksidandır. Vücut tarafından üretilir, diyet yoluyla da alınabilir. Her ne kadar ciğer, kalp ve böbrek gibi et ürünlerinde ve balıkta yüksek oranda bulunsa da, diyete takviye amaçlı alınan koenzim Q hapları ile vücuda alınması daha etkilidir.

Likopen - Beta-karoten ve lütein ile aynı ailenin üyesi olan likopen birçok meyveye kırmızı rengi veren maddedir. Kardiyovasküler hastalıklar ve kansere karşı etkileri ile bağışıklık sistemine olan pozitif etkileri yüzünden uzun süredir gündemde olan bir maddedir. Antioksidan özelliği kanıtlanmıştır. Özellikle domateste çok büyük miktarlarda bulunmaktadır. Prostat ve kalın bağırsak kanserlerinin risklerini büyük oranda düşürdüğü laboratuar çalışmalarıyla kanıtlanmıştır.

Vücuda doğal besinlerden alınan antioksidanların dışında, son yıllarda bir antioksidan ihtiva eden çok diyet takviye ürünü ve krem çıkmıştır. Her ne kadar şu ana kadar ciddi yan etkiler, olumsuz sonuçlar veya toksisiteler görülmemiş olsa da uzun dönemde bu tür diyet takviye ürünleri ve kremlerin nasıl sonuçlar veya yan etkiler doğurabileceği kesin değildir. Şu da unutulmamalıdır ki, antioksidanlar kanser ve yaşlılık etkilerinin risklerini azaltmakta önemli de olsalar, "sihirli iksir" değildirler.

Antioksidan, oksit giderici her türlü kimyasal maddeye verilen addır, sadece biyolojik sistemlerde kullanılmazlar. Kimyasal işlemlerde ve endüstride kullanılan birçok farklı antioksidan vardır.

2.6.2.3. Antioksidanların Gıdalardaki Fonksiyonu

Belirli bir bileşik, bileşiklerin karışımı veya böyle bileşikleri içeren doğal kaynaklı antioksidanların aktivitesi serbest radikalleri tutabilme, onları bozundurabilme veya singlet oksijeni yakalayabilme kabiliyetlerine veya öteki bileşikleri sinerjist veya metal şelatlar olarak etkilemelerine bağlıdır. Doğal kaynaklı antioksidanlar çok defa çok sayıdaki bileşiğin kombinasyonu olarak bir arada bulunur. Böylece doğal kaynaklı antioksidanların elde edildiği kaynağa bağlı olarak etki şekilleri değişik olabilir ve çok sayıda mekanizma iştirak edebilir.

2.6.2.4. Gıda Katkısı Olarak Antioksidanlar

Birçok gıdada ürünü oluşturan bileşikler ile havanın oksijenleri arasında kendiliğinden ortaya çıkan ve otoksidasyon adı verilen tepkimeler oluşur. Her zaman az ya da çok hissedilebilir kalite düşmelerine neden olan bu tür tepkimeler gıda endüstrisi açısından istenmeyen olaylardır. Burada sözü edilen kalite düşmesi renk, koku ve tatta meydana gelen değişmeler ile bazı besin öğelerindeki parçalanmalar ve hatta toksik bileşik oluşturması biçiminde ortaya çıkmaktadır. Yağ ve yağlı gıdalardaki otoksidasyon olayı, hem beslenme fizyolojisi açısından hem de teknolojik-ekonomik açıdan büyük önem taşımaktadır. Otoksidasyonun fiziksel ve teknolojik yöntemlerle önlenemediği durumlarda antioksidan ve sinerjistler kullanılmaktadır. Sinerjistler antioksidan etkisini arttıran maddelerdir.

Antioksidan grubu katkı maddeleri, sanayide bitkisel ve hayvansal yağ içeren maddelerin üretimi, depolanması, taşınması ve pazarlanması sırasında meydana gelecek otoksidasyondan kaynaklanan zararları önlemede en önemli katkı maddeleridir. Antioksidanlar gıdalarda meydana gelebilecek bozulma ve acımayı da engeller.

Bunların önemli özellikleri, ortamda pek az miktarda, binde ve hatta on binde bir oranında bile bulunsalar etkin olmalarıdır. Yağlarda doğal olarak bazı antioksidanlar bulunduğu gibi, yapay olarak elde edilen belirli maddeler de bu işi görür. Doğal antioksidanların en fazla dağılmış ve en iyi bilinenleri tokoferollerdir. En çok kullanılan yapay antioksidanlar ise fenollü olanlardır.

Antioksidanlar, diğer stabilizatörler gibi düşük kaliteli gıda maddesinin kalitesini arttırmaz ve gıdalara herhangi bir yabancı tat ve koku vermez. Ancak bu maddeler, iyi kalitede ham madde, uygun bir imalat tekniği, elverişli ambalajlama ve depolama yöntemleri ile birlikte kullanıldığı ürünün kalitesini korur. Bu maddeler ayrıca, gıdalardaki oksidasyon sorunlarını da ortadan kaldırır. Yağların acılaşmasının bir süre önüne geçen antioksidanlardan başka, yağ bulunmayan besin maddelerinde renk ve kokuları koruyan maddeler de bilinmektedir. Buna karşılık antioksidan özelliği yüksek fakat zehirleyici oluşlarından besin maddelerinde kullanılmayan antioksidanlar da vardır. Bir antioksidanın, besin maddelerinde kullanılmadan önce, sağlığa zararı olmadığı kesin olarak saptanmış olmalıdır. Ayrıca kullanılan antioksidanın adı ve miktarı besin maddesinin etiketinde yazılı olmalıdır.

İyi bir antioksidan aşağıdaki özellikleri taşımalıdır:

- Fizyolojik olarak zararsız olmalıdır.
- Yağ veya yağlı ürünlerin kokusuna, tadına ve görünüşüne etki etmemelidir.
- Yemeklerin pişirilmesi sırasında yağa ve bununla hazırlanmış besinlere etki etmemeli ve aktif kalmalıdır.
- Yağda yeter miktarda çözünmeli ve yağla karışabilmelidir.
- Küçük derişimlerde etkili olmalıdır.
- Kolay elde edilebilmelidir.
- Ucuz olmalıdır.

Gıdalardaki oksidasyonu inhibe eden doğal olarak oluşan maddelerin orijinleri bitki esaslı ingredientlerdir. Belki de kimyasal değişmeler sonucunda üretilir (örneğin Maillard reaksiyonunun ürünleridir) veya gıda olmayan ingredientlerden ekstrakte edilir. Tavuk gibi hayvanların kaslarında kelat ve serbest radikalleri tutma özelliğine sahip olan bir dipeptit olan carnosine gibi doğal antioksidanları ihmal etmemek gerekir.

En aktif antioksidanlar fenolik ve polifenolik bileşiklerdir. Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler fenilpropanoid sınıfı bileşiklerine aittir ve sinnamik asitten türer. Bu bileşikler fenilalanin ve daha az oranda (bazı bitkilerde) tirosinden fenilalanin liyaz ve tirosin liyazın etkisiyle oluşur. C6-C3 bileşiklerinin malonil koenzim A ile etkileşmesi chalconların oluşmasına götürür ki akabinde asidik ortamda halka meydana gelmesi ile flavonoidler ve isoflavonoidler meydana gelir.

Tokoferoller, karotenoidler ve vitamin C de bitkilerde olduğu kadar hayvansal dokularda geniş çapta bulunan öteki grup bileşiklerdir. Gıdalardaki antioksidanların rolleri oksidasyonu geciktirmek veya kontrol etmektir. Oksidasyon prosesi ve gıdalardaki acılaşmanın gelişmesi serbest radikal zinciri mekanizmasına göre başlangıç, tetikleme ve sonlanma adımlarından müteşekkildir. Başlangıç adımında radikaller üretilir ve tetikleme adımında doymamış yağ asitlerinden en az enerji isteyen yerlerden allilik veya diallilik durumdaki hidrojeni çekerek reaksiyona girer. Tetikleme safhasındaki reaksiyonlar zincirleme şeklinde sonlanma reaksiyonlarına kadar devam eder.

Otoksidasyona ilaveten gıdalardaki lipitlerin kalitesi fotooksidatif şartlar altında, lipoksijenazın kolaylaştırdığı prosesler sayesinde veya termal şartlarda (besinlerin kızartılmaları esnasında) zarara uğrar (bozunur). Gıdaların oksidasyonu sonucu oluşan besinlerin çoğu oluşma şartlarına bağlı olmaksızın tabiatıyla birbirine benzerdir. Bu yüzden bütün oksidasyon prosesleri gıda lipitlerinin bozunmaması ve istenmeyen tat ve kokunun oluşmaması için kontrol edilmelidir.

2.6.2.5. Antioksidanların Sistem Ve Hidrofobiyete Bağımlılığı

Farklı antioksidanların değişik oksidasyon şartları altında değişik lipid sistemlerindeki aktiviteleri üzerinde çok sayıda araştırma yapılmıştır. Porter, yüzeyi miktarına göre düşük (kütle yağ) gıda sistemlerinde Trolox C gibi yüksek hidrofilik-lipofilik balanslı (HLB) polar antioksidanların BHA, BHT ve tokoferoller gibi lipofilik antioksidanlardan daha etkili olduklarını ileri sürmüştür. Aksine yüzey alanının hacme oranı yüksek gıdalarda (yağın sudaki emülsiyonları gib) düşük HLB'li lipofilik

antioksidanlar yüksek etkilidir. Trolox C (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilikasid)'nin antioksidan aktivitesi α-tokoferole göre kütle halindeki yağlar için daha iyiyken, yağ-su sistemlerinde bu ikincisi daha iyidir.

2.6.2.6. Gıdalardaki Doğal Antioksidanlar

Hem epidemiolojik hem de klinik çalışmalar tahıl, meyve ve sebzelerdeki fenolik antioksidanların soya fasulyesi gibi belirli gıdalarca zengin diyetlerle beslenenlerde görüldüğü gibi dejeneratif ve kronik hastalıkların şiddetini azalttıklarına dair deliller bulmuştur. Birçok gıdalarda bulunan doğal antioksidanlar komposite gıdalarda stabilizatör olarak kullanılabildikleri gibi ekstakte edilerek diğer gıdalara da katılabilir. Örneğin yulaf ve amaranth yağı tokoferoller ve squalen gibi antioksidanları yüksek miktarlarda içerir. Bu yağlar belirli öteki yağlara ilave edilerek onları stabilize eder. Çay, rosemary ve adaçayı çeşitli gıdalarda oksidasyonu kontrol etmek amacı ile kullanılabilir. Karışık tokoferoller kadar tokoferollerin ürünlerin oksidasyonlarını geciktirmek amacıyla kullanılabilir.

2.7 PEROKSİDAZ

Peroksidaz, Lesitin ve askorbik asit ile kombinasyonları büyük miktarlardaki yağların, emülsiyonların ve öteki ar; peroksidazlar polifenol okzidaz enzimlerinin dahil olduğu, büyük bir enzim sınıfı olan oksidoredüktazlar gurubundan bir enzim topluluğudur. Yüksek bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalarda bulunmaktadır. Özellikle bitkiler aleminde çok yaygındır ve gelişmelerinde önemli rollere sahiptir. Bitkisel dokularda kısmen sitoplazmada çözünmüş formda, kısmen de hücre duvarına bağlı olarak çözünmez formda bulunmaktadır. Peroksidazlar kendi içinde; “Demir içeren peroksidazlar” ve “Flavoprotein perokidazlar” olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar. Meyvelerde söz konusu olan peroksidazlar; “Demir içeren peroksidazlar”dır. Bunlarda; “Ferriprotoporfirin peroksidazlar” ve“Verdoperoksidazlar” olarak iki alt guruba ayrılırlar. Ferriprotoporfirin peroksidazlar, bitkilerde, hayvansal

dokularda ve mikroorganizmalarda da bulunur. Bunların prostetik grubu ferriprotoporfirin lll; yani hematindir. Verdoperoksidazların prostetik gurubu, hematin değil, daha farklı bir demirporfirindir. Verdoperoksidazlar, gıdalarda önemli rolleri bulunan peroksidazlardan birisidir.

Peroksidazlar aşağıda verilen tipteki reaksiyonları katalize ederler:

$H_2O_2 + AH_2 \longrightarrow 2\ H_2O + A$

AH_2: İndirgenmiş formda hidrojen donürü,

A: Oksitlenmiş formda hidrojen donörü,

Bu açıklamaya göre; peroksidaz enzimleri bir hidrojen eşliğinde, peroksitleri parçalayan reaksiyonu katalize ederler. Şu halde temel substrat peroksitlerdir ve başta hidrojen peroksit gelir. Metil veya etil hidrojen peroksitlerde substrat olarak kullanılmaktadır. Diğer taraftan çok sayıda çeşitli bileşikler hidrojen donörü olarak görev alabilmektedir. Bunlar arasında askorbat, fenoller, âminler veya benzer organik bileşikler sayılabilir.

Peroksidazlar oksidoredüktaz sınıfından enzimleri içeren bir grup olup, hidrojen peroksidi oksitleyici olarak kullanmak suretiyle fenolleri okside edebilirler. Bu oksidasyon sonucunda fenoksi radikaller ortaya çıkar. Söz konusu fenoksi radikaller daha sonra çözelti içerisindeki diğer fenol molekülleriyle veya aromatik bileşiklerle tepkimeye girerek poli aromatik yapıda polimerler oluştururlar. Orijinal fenol moleküllerinden farklı olarak, bu polimerler suda çözünmeyen bileşiklerdir ve bu nedenle sulu ortamlarda çökerler.

Bizim tezimizde peroksidaz aktivesini araştırmamızın nedeni yoğurt oluşumu değişen fenolik miktarına karşılık peroksidaz miktarındaki değişimini ve peroksitlerin fenol oksitleyici etkisini incelemektir.

2.8. LAKKAZ ENZİMİ

Polifenoloksidaz enzimlerinden lakkaz, bitkiler aleminde kateşol oksidazlar kadar yaygın değildir. Lakkazın asıl kaynağı küf mantarlarıdır. *Basidiomyocetes* üyesi olan her üyenin lakkaz aktivitesi içerdiği bildirilmektedir. Bazı küflerle infekte olmuş

meyvelerde lakkaz aktivitesinin artışı bu nedenledir. Özellikle *Botriytis cinerea* ile enfekte olmuş üzümlerden elde edilmiş üzüm sularında yoğun bir esmerleşme görülmesinin nedeninin, üzümlerde bulunan kateşol oksidaz tarafından okside edilemeyen"2-S-glutatio asit"in belirtilen enfeksiyon sonucu küflerce salgılanan Lakkaz enzimini oksidasyon yeteneğinin kateşol oksidazdan daha yüksek olması, onun o-difenolik bileşikler yanında p-difenolleride okside edebilmesinden kaynaklanmaktadır. Ancak lakkaz enziminin krezolaz aktivitesi yoktur. Lakkaz karbonmonoksit tarafından inhibe edilmez ve tüm polifenol oksidaz enzimleri arasında çok daha fazla maddeye spesifikliği vardır. Küflerdeki lakkaz pigment biçiminden toksik bileşiklerin etkisizleştirilmesinden ve lignin degrasyonundan sorumludur

Diğer taraftan fenolik bileşikleri okside etmesi yanında lakkaz enziminin bazı yan aktiviteleri de mevcuttur. Nitekim bu enzimin, lignini demetinize etme yeteneğinde olduğu ve böylece lignin degragasyonunda rol oynadığı bilinmektedir. Bizim deneyimizde polifenol ve lignin degrasyonu etkisi sonucunda fenolik madde miktarına etkisi araştırıldı.

2.9. β-GLUKOZİDAZ

Mikroorganizmalar tarafından üretilen β-glukozidaz enzimi izoflavon glukozidazları sağlık açısından yararlı olan biyoaktif izoflavon aglikona dönüştüren önemli bir enzimdir. Deneylerde *Lactabacilluous acidophilus, ağırlıklı Llactabacilluous bulgaricus, Streptococus thermofilus* bakterilerinin içerdiği β-glukozidaz enzim aktivitesinin tayinini yapılmasının nedeni insan metabolizmasına yararlı etkide bulunmayan fenolik bileşik olan izoflavonları yararlı forma dönüştürmede faydalıdır. Bu enzimin yoğurt mayalanma aşamasının hangi saatlerinde en aktif olduğunu saptamaktır. Tezde β-glukozidaz aktivitesini saptamamda Paranitro fenol β-likopranozid bileşiğinin sarı rengini β-glukozidaz enzimi ile kırılan β-(1–4) glukozidaz bağı sayesinde bu bileşiğin renginin giderilmesine dayanan spektrofotemetrik yöntemle ölçüldü.

3. MATERYAL VE METOTLAR

3.1. MATERYALLER

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Probiyotik bakteri (Dİ-PROX TY975 FRANSA)

Kateşin, % 95 lik etanol, Folin belirteci, Hidrojen peroksit, Sodyum karbonat, Sığır serum albumini -BSA, (Sigma) Chem Co dan sağlandı.

1-1difenil 2- pica hidrazil DPPH, 2,2-azino-bis-(3 etilbenzotihazolin-6- sulfonik asit)ABTS, Bakırsülfat.$5H_2O$, Para nitrofenol beta-p-glikopranozid

Potasyum sodyum tartarat (Merk) Almanya'dan alındı.

Süt (Sütaş pastorize sütü) yerel marketlerden temin edildi.

3.1.2. Kulanılan Aletler ve Cihazlar

Santrifüj (Mistral 2000), Mikro pipet (eppendorf research), Su banyosu (clifton), Analitik terazi (gec avery), Buzdolabı (ev tipi), UV spektrofotometre shimadzu UV 160A

3.1.3. Hazırlanan Çözeltiler

0,1 M sodyum asetat tamponu

0,2 M sodyum asetat tamponu

0,8 m M Hidrojen peroksit

%2,0'lik Na_2CO_3(0,1 M NaOH içinde)

%2,0'lik $CuSO_4.5H_2O$

% 2,0'lik K/ Na Tartarat

3.2. Metodlar

3.2.1. Probiyotik yoğurdun hazırlanması

Probiyotik yoğurt hazırlanırken *Lactobacilluous acidophilus* bakterisi kullanılmıştır. 47.5 ml pastorize süt örneğine 2.5 gr kuru bakteri ilave edilmiş ve 48 saat mayalanmaya bırakılıp 8 saatte bir 1 ml örnek alınıp üzerine 9 ml su ilave edilip 4500 rpm de 35 dakika santrifüj edilmiştir.

3.2.2. Genel Aktivite Testleri

3.2.2.1. Standart kateşol grafiğinin hazırlanması

Bidistile su ile taze olarak, 25-200 μg/ml konsantrasyon aralığında kateşol örnekleri hazırlandı. Her biri eşit miktar Folin belirteci ile oda sıcaklığında 1 saat reaksiyona sokularak oluşan mavi rengin değişimine göre 725nm de spektrofotometrede ölçüldü. Kateşol miktarlarıyla bunlara karşı okunan absorbansların aralarında elde edilen grafik ve denklemi standart grafik olarak kullanıldı.

3.2.2.1. Toplam fenolik madde miktarı tayini

Santrüfüjlenen örneklerden 3 ml alınarak Folin belirteci ile reaksiyona sokularak 725 nm de absorbans değerleri okundu. Standart grafik ve grafik denkleminden fenolik miktarları belirlendi.

3.2.2.2. Antioksidan aktivite tayini

30 ml 0,1 mM 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) % 95’ lik metanol içinde hazırlandı. 8 saatte bir alınan örneklerden 0.6 ml alınarak üzerine 2.4 ml DPPH çözeltisi ilave edildi. 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve 4500 rpm de 15 dakika

santrifüjlenip 517 nm de absorbansı okundu. Antioksidanların DPPH radikalinin rengini gidermesine göre antioksidan aktivitesi aşağıdaki denklemden belirlendi.

% DPPH = Kör Abs – Örnek Abs / Kör Abs

3.2.2.3. Lakkaz aktivite tayini

Lakkaz aktivitesi; Majherczyk metoduna göre (2-2-azino-bis-(3 etil benzotihozoline – 6 sulphonik asit) ABTS) oksidosyonuyla belirlendi. (Majcherczyk A ve Johannes, 1999)

Reaksiyon ortamına 0.3 ml yoğurt örnekleri pH 4,5 te 0,1 M sodyum asetat tamponu içindeki 2,7 ml de 5 mM lık ABTS içermektedir ABTS oksidasyonunu 420 nm de artan absorbansa göre takibi yapıldı. Enzim aktivitesi her bir mg protein ünitesi olarak ifade edilen bir ünite, deney koşullarında ABTS oksidasyonuna uğramış 1μmol enzim miktarı olarak tanımlanır.

Lakkaz aktivitesi

U= $\frac{1}{\epsilon d}$.ΔA/dak formülü kullanılarak hesaplandı.

$\varepsilon.d=36.10^{-4}$

ΔA Absorban farkı

3.2.2.4. Toplam peroksidaz aktivite tayini

Lakkaz aktivite tayininde kullanılan örneklere 800 mM hidrojen peroksit ilave edilerek 420 nm de absorbans ölçümü yapılarak aktivite tayini yapıldı.

3.2.2.5. β-glukozidaz aktivite tayini

Mccue ve shetty' e göre her bir örnek içindeki glukozidaz aktivitesi belirlendi. Standart reaksiyon karışımı 2.4 ml 0,2 M sodyum asetat tamponu ve 0,3 ml 9 mM p-nitro fenilin β-glukopranozid içermektedir. Tüpler 50^{o}C de su banyosunda 5 dakika

bekletildi. Reaksiyon tüpleri 0,3 ml santrifüjlenmiş örneklere eklenerek 30 dakika bekletildi. 3 ml 0,1 M sodyum karbonat eklenerek reaksiyon durduruldu ve örnekler 2 dakika 4500 rpm de santrifüjlenip 400 nm de absorbans değerleri okunarak her bir örnekte kurtarılan nitro fenol tespit edildi. Sodyum asetat tamponunda çözünmüş saf p-nitrofenol kullanılarak eğri oluşturuldu. Hesaplamalar yapılarak bir miktar enzime göre bir ünite glukozidaz aktivitesi tanımlandı(Mccue ve Shetty 2003).

3.2.2.6. Protein Tayini

Protein tayini Lowry metoduna göre yapıldı. Protein tayini yapılmasında şu sıra izlendi.

Reaktif Çözeltileri:

Reaktif I - %2,0'lik $CuSO_4.5H_2O$

Reaktif II - % 2,0'lik K/ Na Tartarat

Reaktif A - % 2,0'lik Na_3CO_3(0,1 MNaOH içinde)

Reaktif B - 1,0 ml Reaktif I ve 1,0 ml Reaktif II alınır. Reaktif A ile 100 ml'ye tamamlanır.

Folin Reaktifi - Stok Folin 1:1 oranında distile su ile seyreltilir.

Standart Çözeltiler:

1) Stok Sığır Serum Albumin (BSA) – 100 mg'ı 10 ml distile suda çözülür (10 mg/ml).
2) Çalışma Standart Çözeltileri: 10 mg/ml BSA çözeltisinden seyreltme ile 0,02; 0,05; 0,10; 0,15 ve 0,20 mg/ml olacak şekilde çözeltiler hazırlanır.

Ölçümler aşağıda verilen tabloya uygun olarak gerçekleştirildi.

Tablo 3.1 Protein tayini

İşlemsırası	İşlem
1	Standart çözeltilerin ve bilinmeyen protein örneğinin 0,5 ml'si ve kör için 0,5 ml distile su tüplere pipetlenir.
2	Reaktif B'nin 2,5 ml'si her tüpe ilave edilir ve vortekste karıştırılır. Karışım oda sıcaklığında 10 dakika beklemeye bırakılır.
3	0,25 ml Folin reaktifi her tüpe eklenir ve tüpler vortekste karıştırılır.
4	Tüpler 30 dakika oda sıcaklığında beklemeye bırakılır.
5	660 nm de her tüpün köre karşı absorbansı okunur.

Tezimizde protein tayini ile elde edilen protein miktarlarını enzimlerin spesifik aktivitelerini belirlemede kullandık.

3.2.3. Genel Optimisazyon Testleri

3.2.3.1. Bakteri Miktarının Etkisi

Yoğurt mayalama esnasında bakteri miktarı değiştirilerek denemeler yapıldı. 47.5 ml süte 2,5 gr kuru maya 47,5 ml 1.25 gr maya 47,5 ml süte 5 gr maya kullanılarak yoğurtlar hazırlandı.

3.2.3.2. Bakteri Kulanım Şeklinin Etkisi

Bakteriyi kullanırken iki şekilde kullandık. Kuru liyofilize formda ve MRS Broth içinde çoğaltılmış yaş bakteri formunda bakteriler yoğurt mayalama aşamasında kullanıldı. Aktivite testleri yapıldı.

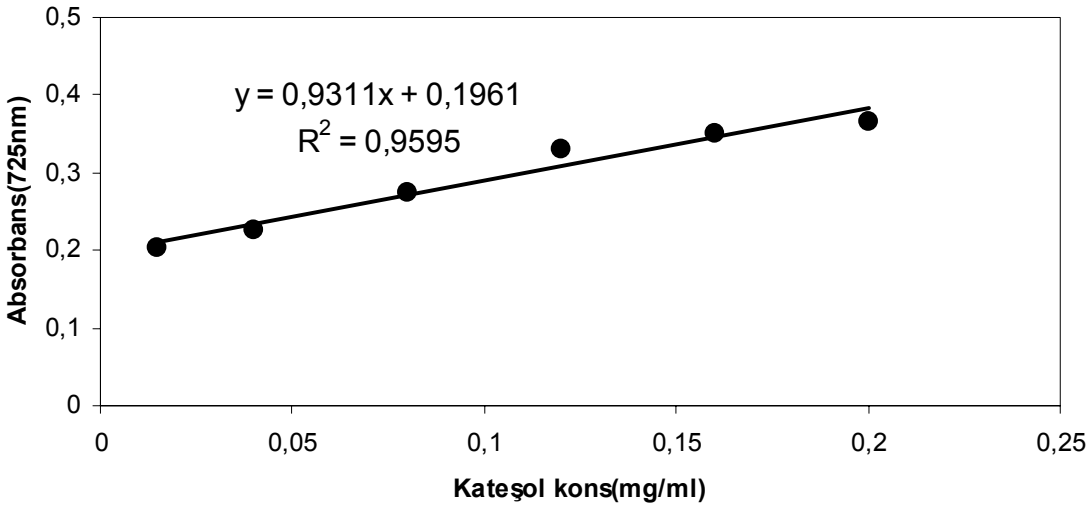
3.2.3.3. Substrat Adapteli Bakteri Etkisi

MRS Broth ile büyütülmüş bakteriler alınarak, belli konsantrasyonda kateşollu ortamda 24 saat bekletildi. Bu bakterilere kataşole adapte bakteri denildi. Bu bakterilerle yoğurt üretilip aktivite testleri aynı şekilde yapıldı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Fenolik Standardının Bulunması

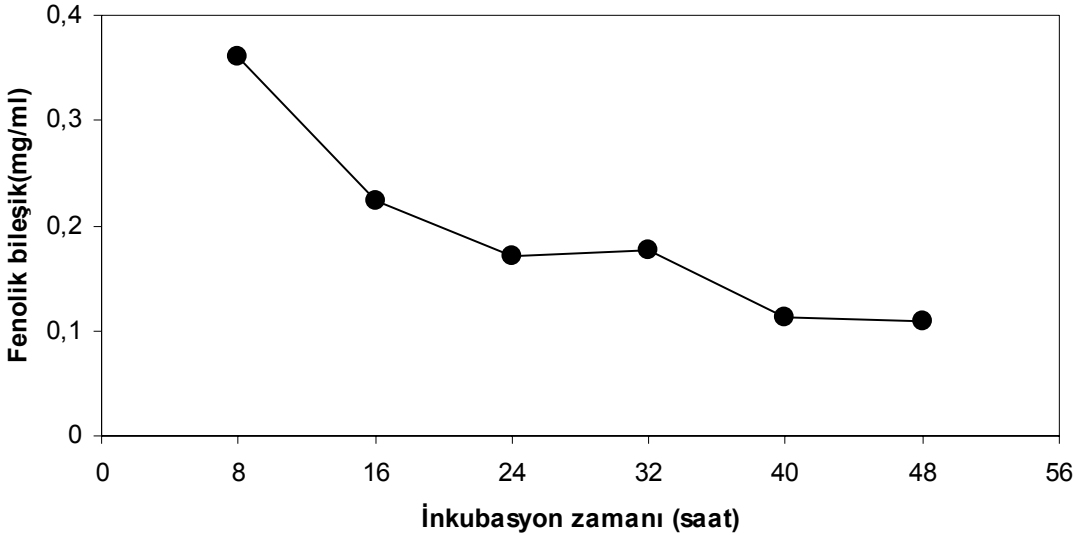
Fenolik madde tayini ve standart grafik 3.2.2.1 deki gibi belirlendi.



Şekil 4.1. Fenolik bileşik standardı

4.1.1. Fenolik madde miktarının belirlenmesi

Standart grafikten faydalanarak 3.2.2.1. de belirtildiği gibi 8 saatte bir alınan örneklerin fenolik miktarları belirlendi. Belirlenen fenolik miktarının saate bağlı değişimi grafik de gösterildi.

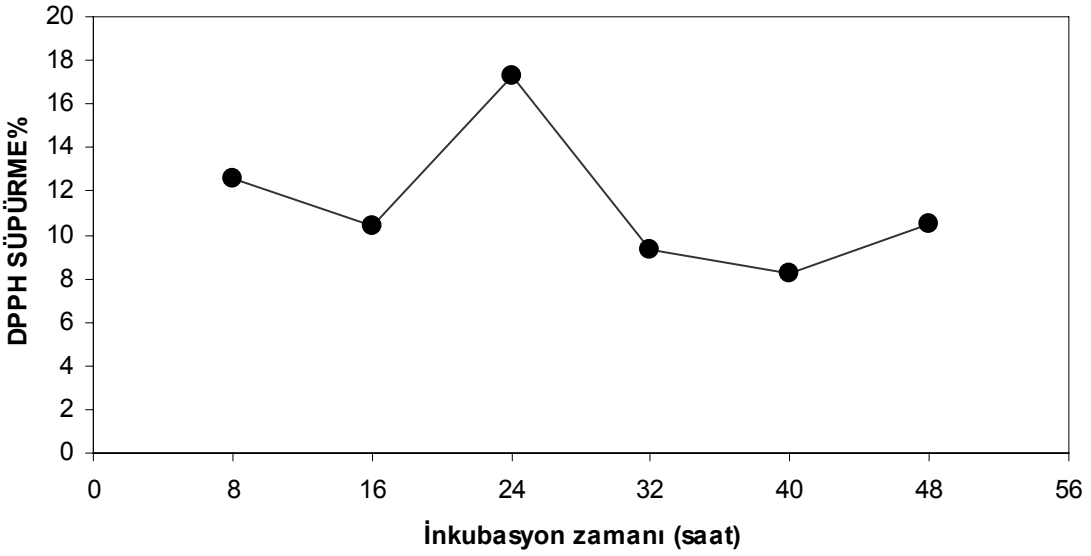


Şekil4.2. Yoğurt örneklerindeki fenolik bileşik miktarı

4.1.2. Antioksidan Aktivite Tayini

Antioksidan aktivite tayini 3.2.2. te belirtildiği gibi yapıldı. % DPPH ın şekildeki gibi hesaplamalar yapılarak saate karşı antioksidan aktivitesi grafiği çizildi.

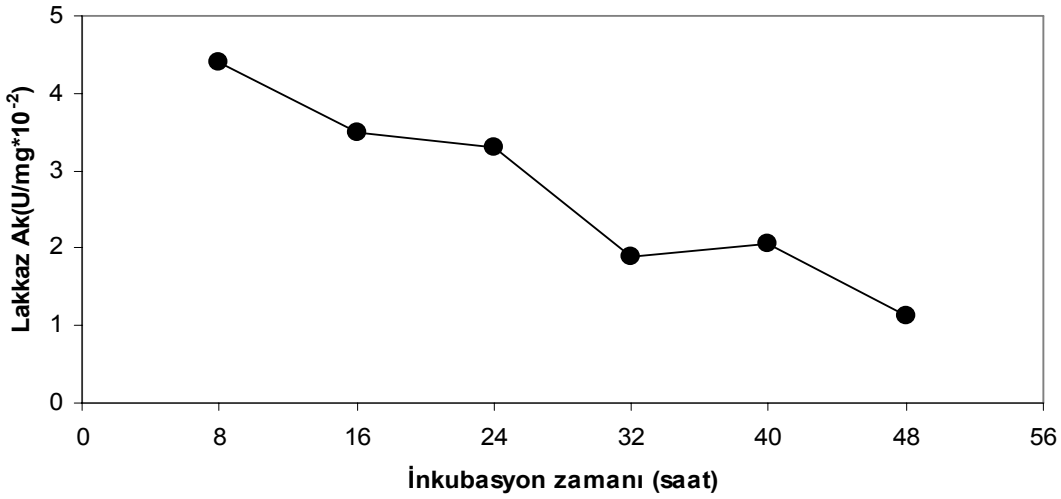
% DPPH = Kör Abs – Örnek Abs / Kör Abs



Şekil4.3. Yoğurt örneklerindeki antioksidan aktivitesi

4.1.3. Lakkaz Aktivite Tayini

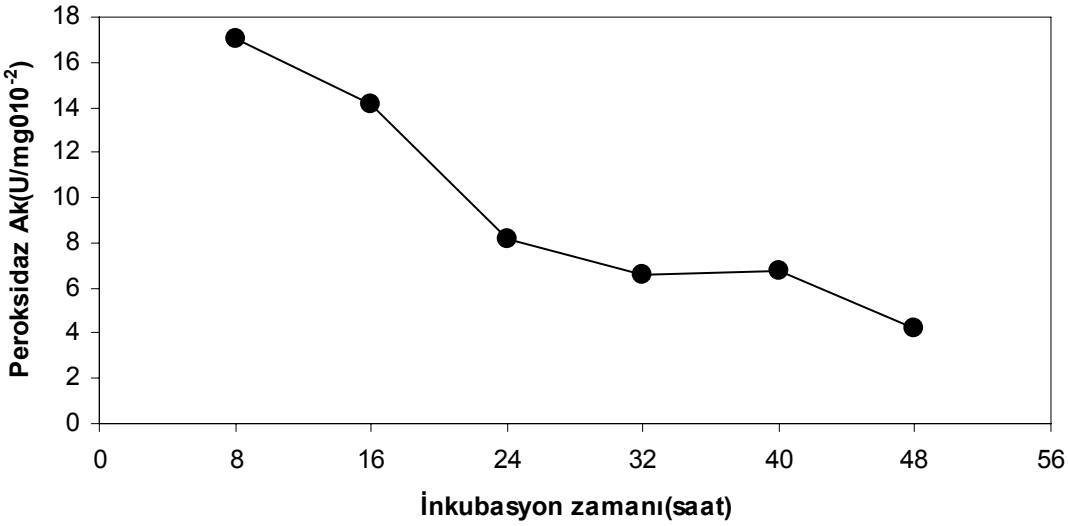
Lakkaz aktivitesi 3.2.2.3 te belirtildiği gibi yapıldı. 8 saate alınan yoğurt örneklerinden yapılan hesaplamalar ile lakkaz aktivite hesaplandı.



Şekil 4.4. Yoğurt örneklerindeki Lakkaz aktivitesi

4.1.4. Peroksidaz Aktivite Tayini

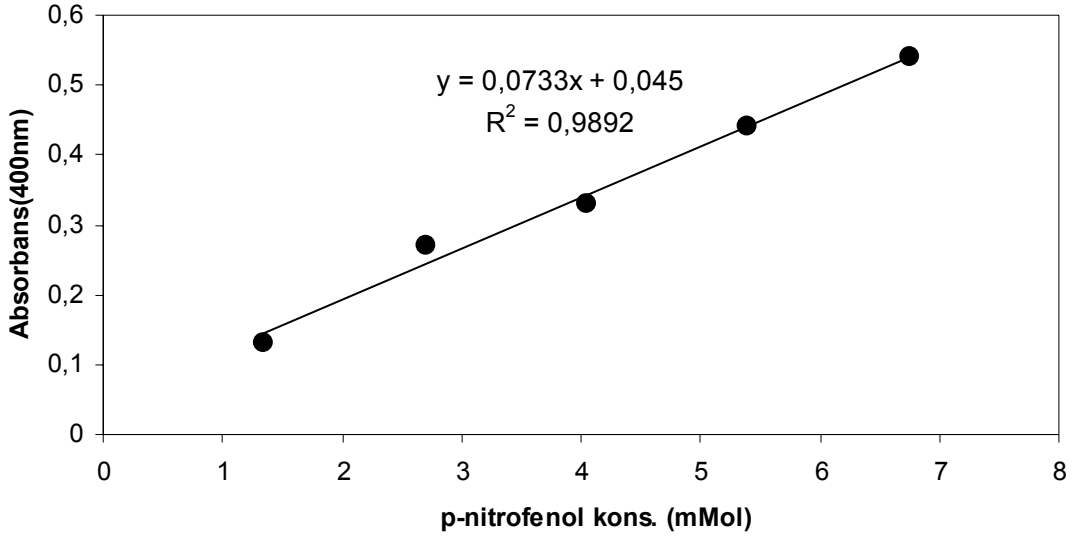
Peroksidaz aktivitesi 3.2.2.4 te belirtildiği gibi yapıldı



Şekil 4.5. Yoğurt örneklerindeki Peroksidaz aktivitesi

4.1.5. β-Glukozidaz Aktivitesi İçin Standart Eğri

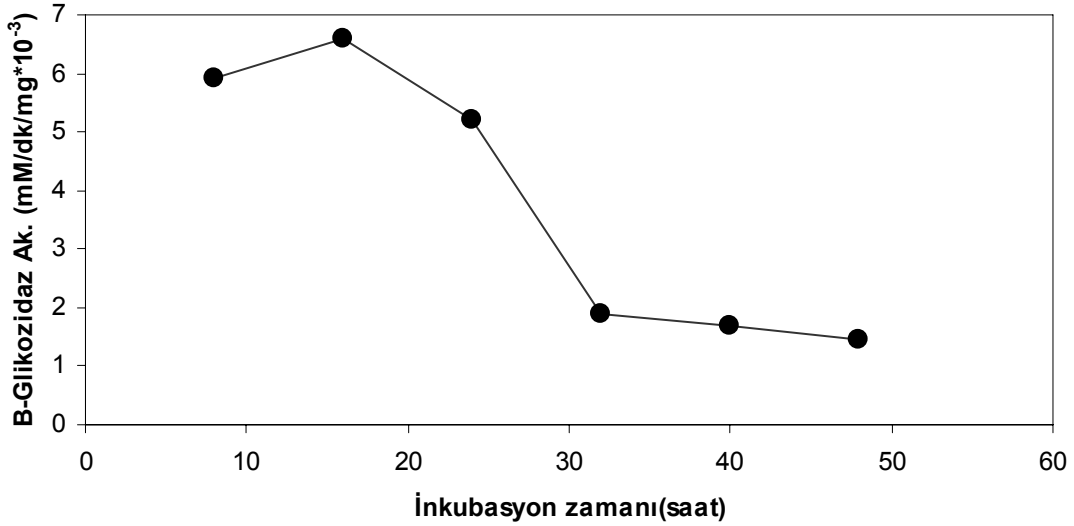
3.2.2.5 te belirtildiği gibi β glukozidaz aktivite tayini yapıldı.standart grafik oluşturup hesaplamalar yapıldı.



Şekil 4.6. β-glukozidaz aktivitesi için p nitro fenol standardı

4.1.5.1. β-Glukozidaz aktivitesinin belirlenmesi

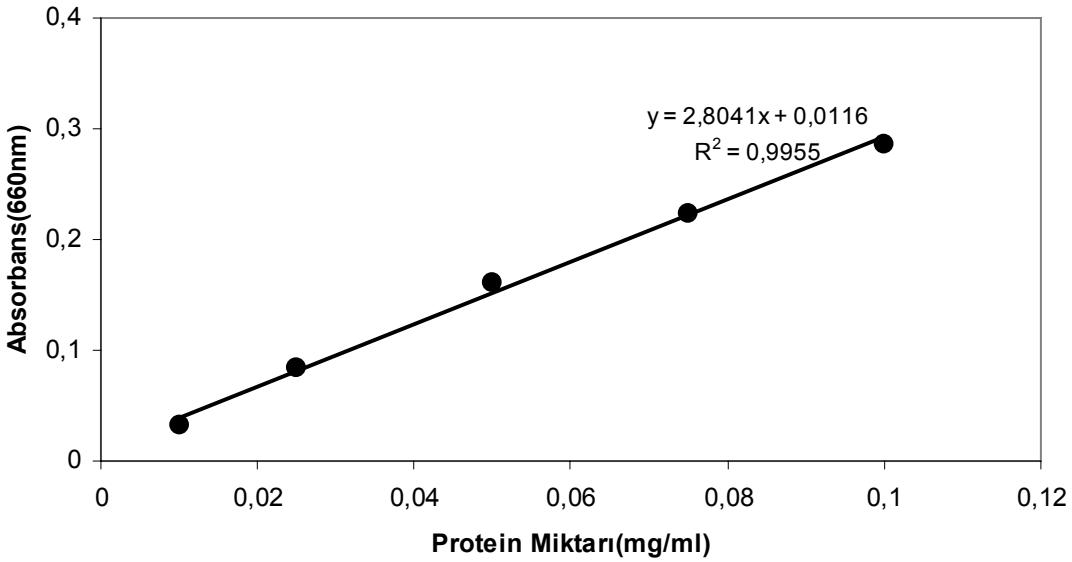
Standart grafikten faydalanalarak 3.2.2.5 te belirtildiği gibi hesaplamalar yapıldı ve grafik oluşturuldu.



Şekil 4.7. Alınan yoğurt örneklerinde β-glukozidaz aktivitesi

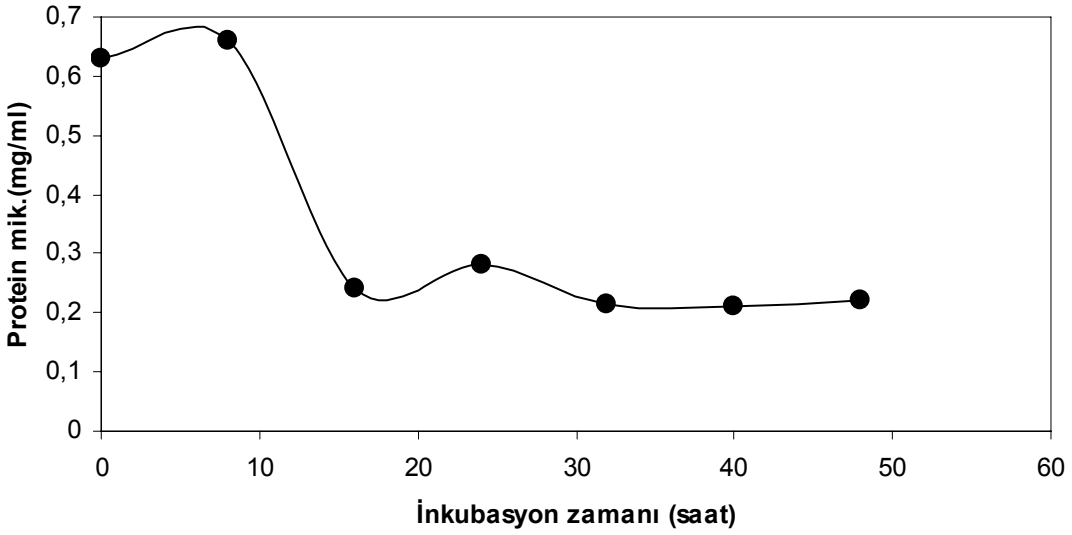
4.1.6. Protein Tayini

Protein tayini 3.2.2.6 da belirtildiği gibi yapıldı ve standart grafik oluşturuldu.



Şekil 4.8. Protein tayini için standart grafik

Standart grafiğe göre protein miktarı belirlendi

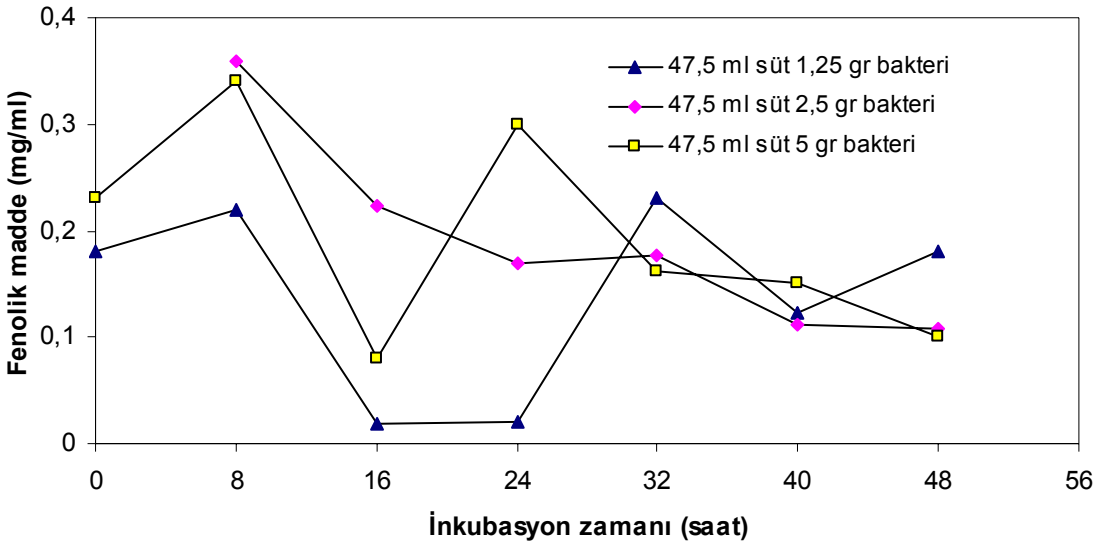


Şekil 4.9. Alınan yoğurt örneklerinde protein tayini

4.2. Bakteri Miktarının Etkisi

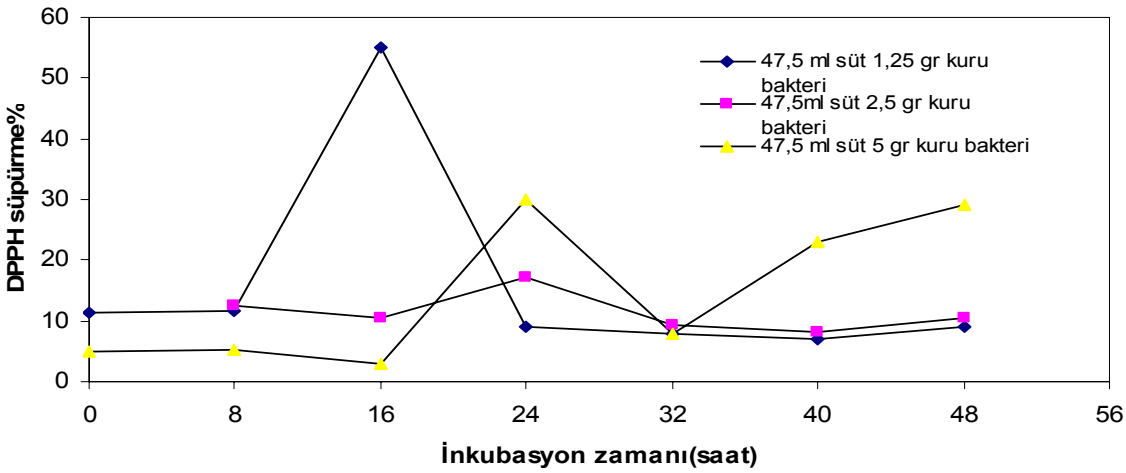
3.2.2.1 de belirtildiği miktarlarda kuru bakteri kullanılarak genel testler yapıldı.

4.2.1. Fenolik maddedeki değişimi



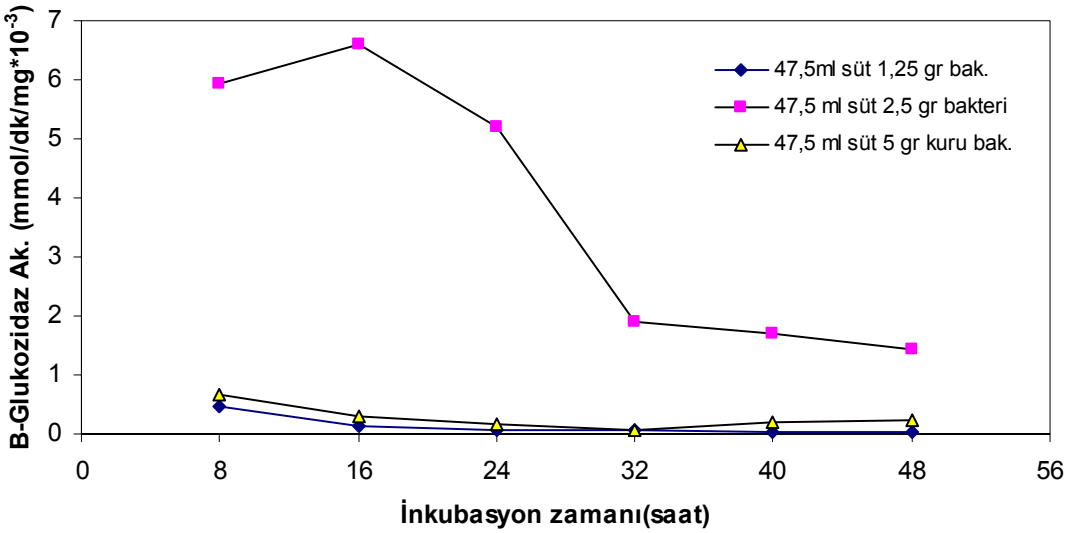
Şekil 4.10. Bakteri miktarında ki değişimin fenolik madde miktarına etkisi

4.2.2. Antioksidan aktivitesine bakteri miktarının etkisi



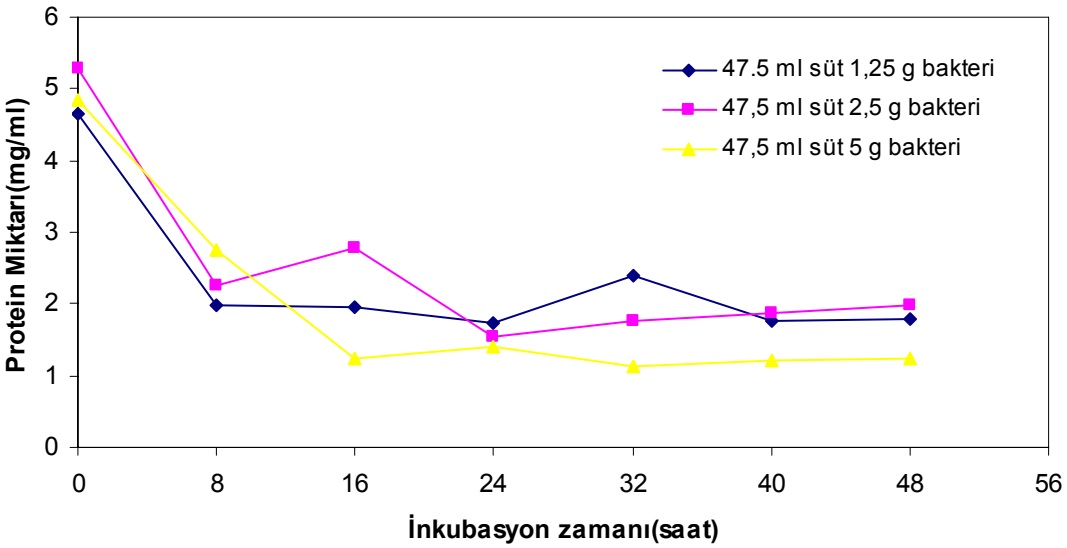
Şekil 4.11. Bakteri miktarının antioksidan aktiviteye etkisi

4.2.3. Bakteri miktarının β-glukozidaz aktivitesine etkisi



Şekil 4.12. Bakteri miktarının β-glukozidaz aktivitesine etkis**i**

4.2.4. Protein miktarına etkisi

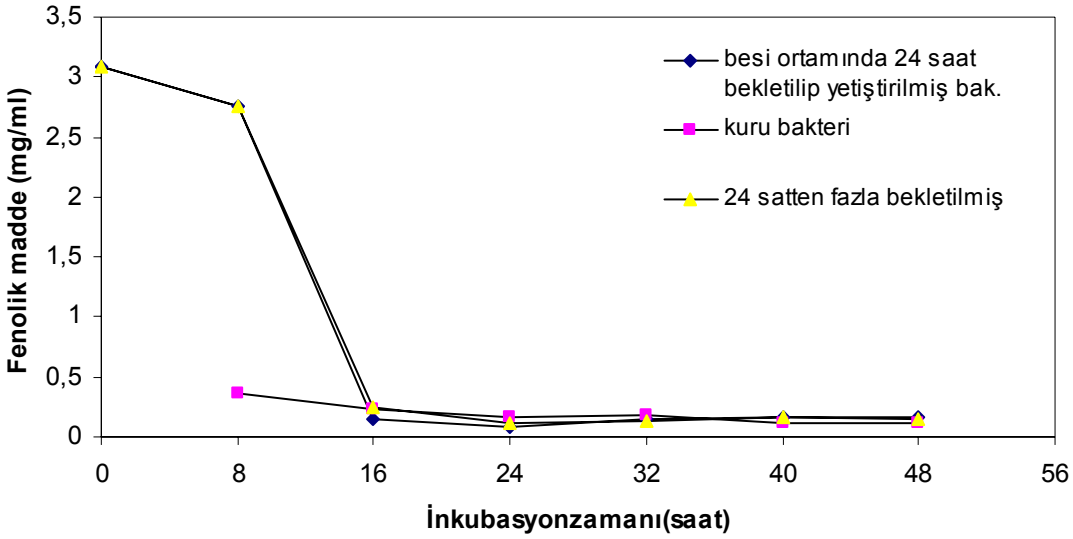


Şekil 4.13. Bakteri miktarının protein tayinine etkisi

4.3. Bakteri Kullanım Şeklinin Etkisi

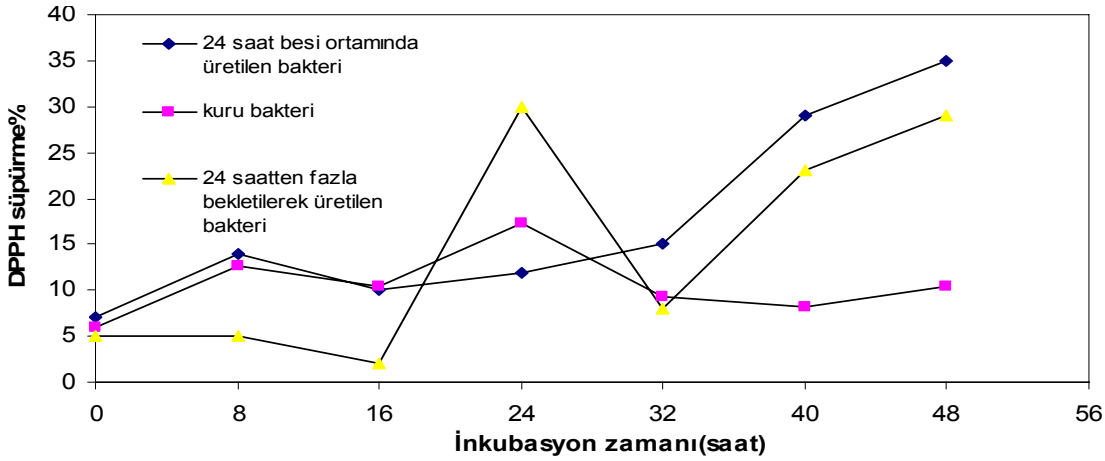
Deneyimizde iki çeşit formda bakteri kullanıldı ve buna göre aktivasyon testlerinin farklılığı gözlendi. Kuru bakteri formu ve MRS Broth (besi ortamında) 24 saat ve 24 saatten fazla bekletilen bakterilerle mayalanan yoğurt örneklerinde aktivasyon testleri yapıldı.

4.3.1 Fenolik bileşik



Şekil 4.14. Bakteri kullanım şeklinin fenolik madde miktarına etkisi

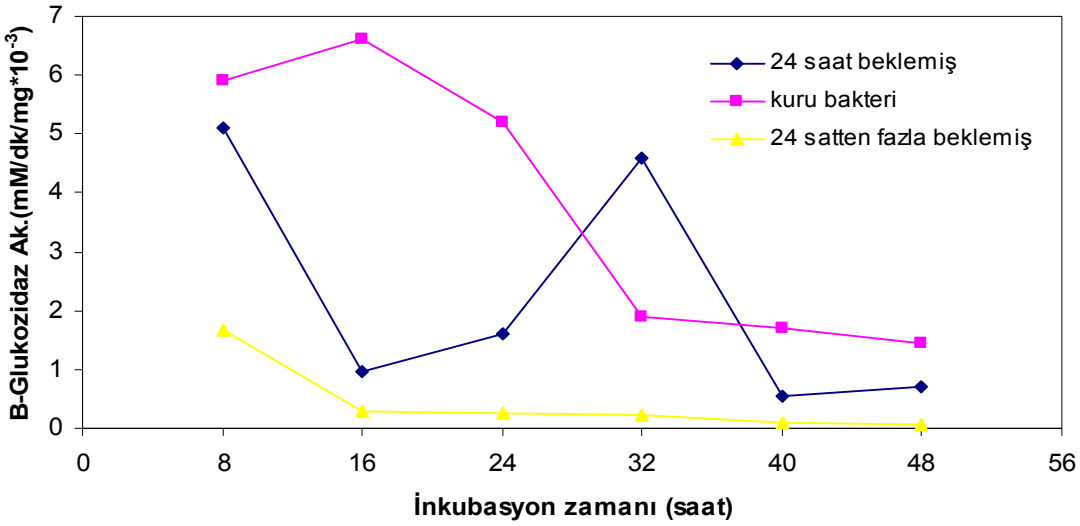
4.3.2. Antioksidan aktivitesine etkisi



Şekil 4.15. Bakteri kullanım şeklinin antioksidan aktivitesine etkisi

4.3.3. β-glukozidaz aktivitesine etkisi

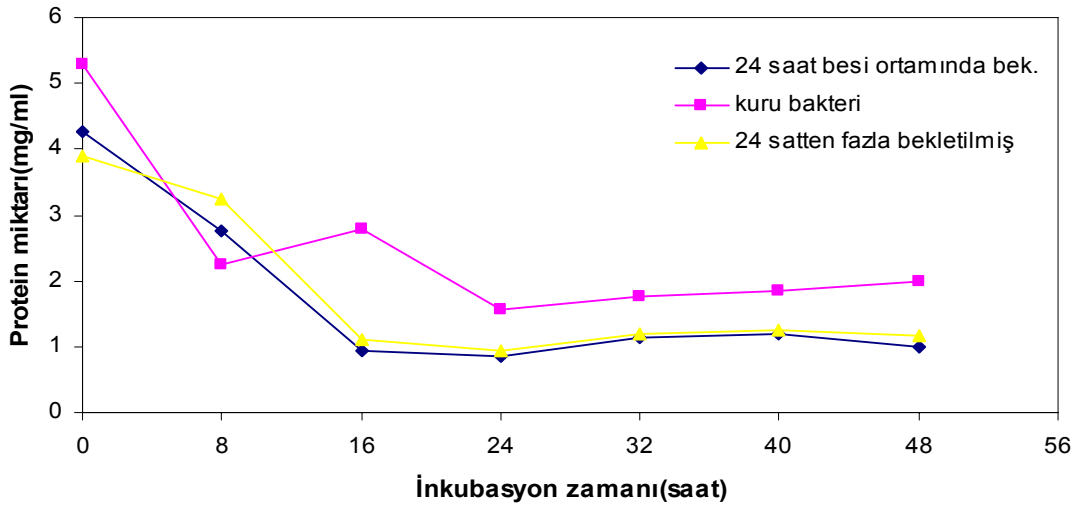
Besi ortamında değişik saatler bekletilerek üretilmiş bakterilerle mayalan yoğurttaki β-glukozidaz aktivitesi 3.2.2.5 te belirtildiği gibi yapıldı.



Şekil 4.16. Bakteri kullanım şeklinin β glukozidaz aktivitesine etkisi aktivitesine etkisi

4.3.4. Protein tayinine etkisi

Besi ortamında değişik saatler bekletilerek üretilmiş bakterilerle mayalan yoğurttaki protein tayini 3.2.2.6 te belirtildiği gibi yapıldı.



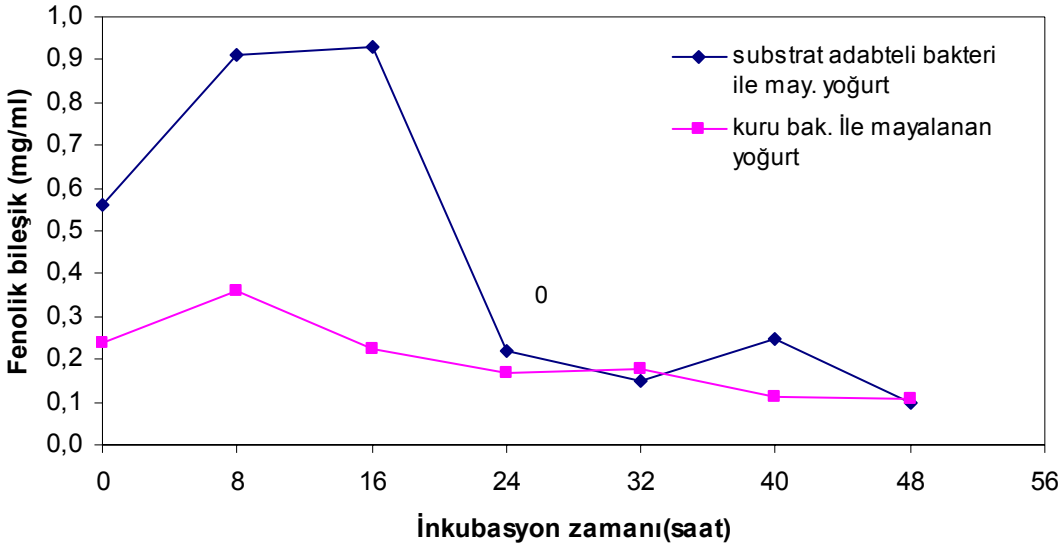
Şekil 4.17. Bakteri kullanım şeklinin protein miktarı aktivitesine etkisi

4.4. Substrat Adapte Bakteri Etkisi

Kateşollü ortamda üretilen bakterilerle mayalanan yoğurtta aktivasyon testleri yapıldı ve sonuçları grafiklerle gösterildi.

4.4.1. Fenolik bileşik miktarına etkisi

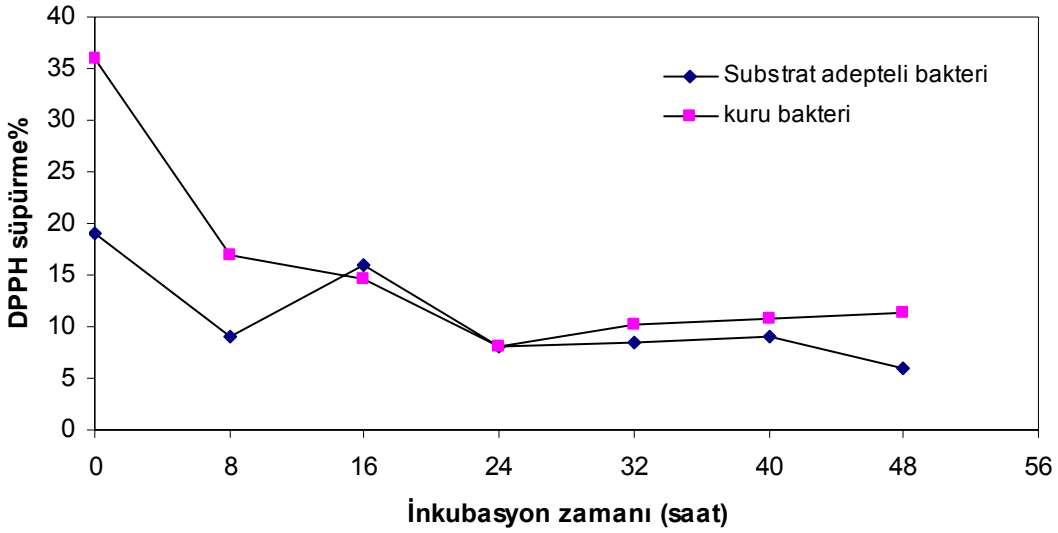
Substrat adapte bakterilerle mayalanan yoğurttan alınan örneklere 3.2.1 de belirtildiği fenolik madde tayini yapıldı.



Şekil 4.18. Substrat adapteli bakterilerle mayalanan yoğurtta fenolik bileşik miktarı

4.4.2. Antioksidan aktivitesine etkisi

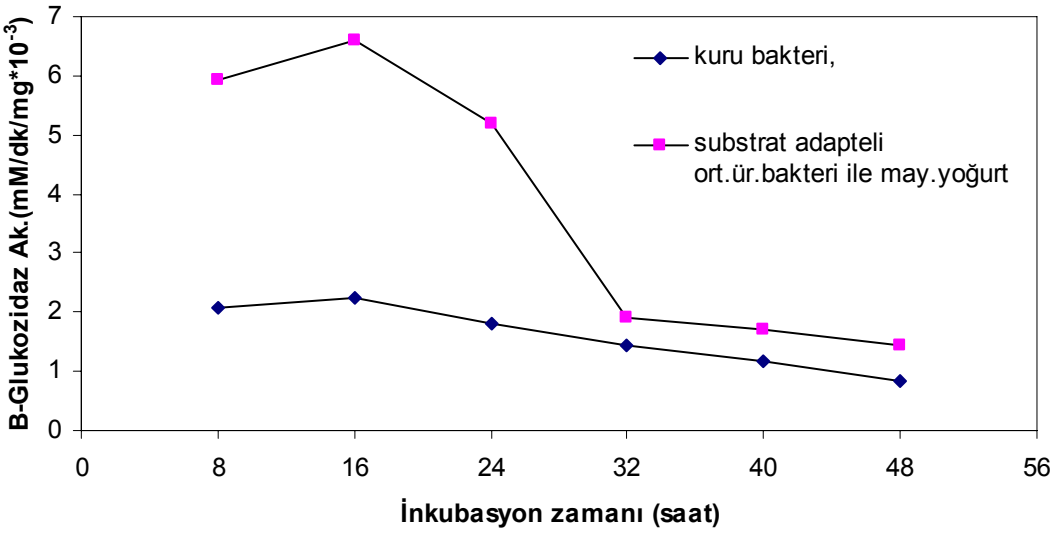
Substrat adapteli bakterilerle mayalanan yoğurttaki antioksidan aktivitesi tayini 3.2.2.2 de belirtildiği gibi yapıldı.



4.19. Substrat adapteli bakterilerle mayalanan yoğurtta antioksidan aktivitesi

4.4.3. β-glukozidaz aktivite tayini

Substrat adapte bakterilerle mayalanan yoğurttan alınan örneklere 3.2.2.4 de belirtildiği gibi β glukozidaz aktivite tayini yapıldı.



Şekil 4.20. Substrat adapteli bakterilerle mayalanan yoğurtta beta glukozidaz aktivitesi tayini

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Ticari probiyotik katkılı yoğurtların üretimi ve buna bağlı olarak tüketimleri son yıllarda hızla artmaktadır. Probiyotik yoğurtların üretiminde kullanılan probiyotik bakterilerin; sütün kendi fenolik ve polifenolik bileşik kapsamını nasıl etkilediği konusunda bilgi ve araştırmalar yetersizdir. Bu tez çalışması; bakteri eklendikten sonra zamana bağlı yoğurt oluşumu sırasında sütün fenolik, polifenolik ve fenolik – karbonhidrat yapılı bileşiklerindeki değişimi, toplam fenol kapsamı antioksidan aktivitesi, lakkaz, peroksidaz ve β-Glukozidaz enzim aktivitelerinin değişimleri yoluyla belirlemek ve değişimleri hakkında bilgi üretmektir.

Çalışma; ilk önce hazır ticari kuru bakteri ile pastorize sütün 1/19 (g/ml) oranında karışımlarının 0,48 saat inkubasyonu boyunca her 8 saatte 1 ml analiz örneği alarak gerçekleştirildi. İkinci aşamada süt miktarı aynı tutularak bakteri miktarı değiştirilip her biri için aynı işlemler yapıldı. Üçüncü aşamada bakteri MRS Broth ortamında büyütüldükten sonra yoğurt üretiminde kullanıldı ve aynı analizler tekrarlandı. Dördüncü aşamada MRS Broth ortamında büyütülen bakteriler; kateşol substratı içeren tampon ortamında substrata adapte edildikten sonra yoğurt üretiminde kullanıldı ve aynı analizler tekrarlandı.

Kuru bakteri (*Lactabacilluous aciduphilus, Lactabacilluous bulgaricus, Streptococus thermofilus*) ile hazırlanan yoğurttaki fenolik bileşik miktarındaki değişim incelendiğinde 8. saatte 0,36 mg/ml maksimum düzeyde fenolik bileşik olduğu 32. saatte fenolik bileşik miktarında artış olduğu görülmüştür. 24. saatte 0,17 mg/ml iken 32 saatte % 5 artarak 0,178 g/ml olduğu gözlenmiştir.

Bu alanda yapılan çalışmalar çok sınırlıdır. Birkaç örnekten biri olan Mc Cue and Shetty'e göre soya sütü ile hazırlanan probiyotik yoğurtta fenolik bileşik miktarının değişimi 24 ve 32. saatlerde artığı rapor edilmiştir. 32. saatte maksimum düzeye ulaşmıştır.

Antioksidan aktivitesi, 24. saatte maksimum düzeye ulaştı. 16. saatte % 10 iken 24 saatte % 17 çıktı. 40. saatte % 8,2 ye düşmüşken 48. saatte % 10,5a çıktı. 24. saatteki artış fenolik miktardaki azalış polifenollerdeki artıştan kaynaklanmıştır (McCue P and Shetty 2004).

Mc Cue and Shetty'e göre soya sütünde yapılan antioksidan denemesinde 32. ve 48. saatlerde artış olduğu belirtilmiştir.

β-glukozidaz aktivitesinin de 16. saatte maksimum düzeye ulaştığı gözlendi. Aktivitenin 16. saatteki artışının, fenolik madde miktarının azalışı polifenollerdeki artıştan kaynaklanmıştır (Makkar ve Tsuneda A 2001).

Lakkaz aktivitesi, 8. saatte $4{,}4.10^{-2}$ U/mg protein olan aktifliğin 16. saatte % 23 oranıda düşüş göstermiştir. Özellikle 24. saatte $3{,}3.10^{-2}$ U/mg protein olan enzim aktifliğinin 32. saatte % 40 oranında azalarak $1{,}89.10^{-2}$ /mg protein'e düşmüştür. Bu saatlerdeki azalışlar fenolik miktarındaki artış, polifenol miktarındaki azalıştan kaynaklanmaktadır (Band ve Ciofi, Baffoni, 1999).

Soya sütü probiyotik yoğurdunda yapılan lakkaz aktivitesi çalışmasında 16. saatte maksimum artış olduğu belirtilmiştir (Mc Cue ve Shetty, 2004).

Peroksidaz aktivitesi, 8. saatte 17.10^{-2} U/mg ile maksimum olduğu gözlendi. 16. saatte $14{,}1.10^{-2}$ U/mg olan enzim aktivitesinin 24. saatte % 58 oranında azalarak $8{,}19.10^{-2}$ U/mg düştüğü görüldü. Bu düşüş fenolik miktardaki azalıştan kaynaklanmıştır. Peroksidazlar fenolik bileşikleri substrat olarak kullandıkları için fenolik bileşik miktarındaki düşüş peroksidaz aktivite sinide düşürmektedir (Band L ve Ciofi-Baffoni 1999).

Soya sütünde yapılan probiyotik yoğurtlarda yapılan peroksidaz aktivitesi denemesinde 16. saat ve 32. saatlerde düşüş olduğu ve 24. ve 40. saatlerde artış olduğu gözlenmiştir (Mc Cue ve Shetty 2004).

Protein tayini; 16. saatte protein miktarının 0,63 mg/ml yoğurt ile maksimum değerine ulaştığı 24 saatte yaklaşık olarak % 60 azalış göstererek 0,24 mg/ml yoğurt değerine düştüğü bulundu. Bu düşüş lakkaz aktivitesindeki artıştan kaynaklanmaktadır (Yamamato N ve Akino A 1993).

Mc Cue ve Shetty 'e göre soya sütünde yapılan protein tayini denemesinde 16.saat maksimuma ulaştığı 24. saatte minimum olduğu belirtilmiştir.

Çalışmanın ikinci kısmında kullanılan bakteri miktarı değiştirilerek hazırlanan yoğurtlarda aktivite testlerini yapıldı.19,5 ml. Pastorize süte sırayla 0,5, 1 ve 2 g kuru bakteri ekleyerek hazırlana probiyotik yoğurtlarda ölçümlerin tümü tekrarlandı.

Fenolik bileşik miktarlarını karşılaştırdığımızda; üç örnekte de 8. saatte maksimum değerlerine ulaştığı görüldü. Bu maksimum değerlere bakıldığında 1g bakterili yoğurttaki 0,36 mg/ml değerinin en yüksek olduğu gözlemlendi. 24. saatte ki değerlere bakıldığında en yüksek değerin 1 g bakterili yoğurt örneği olduğu görüldü. 1g bakterili yoğurt örneğindeki fenolik bileşik miktarının sadece 32. saatte en düşük oluğunu gözlemlendi. 0,5g bakterili yoğurtta bakteri miktarının az olmasından dolayı fenolik miktarı düşük çıkmıştır. 2 g bakterili yoğurtta ise substrat yetersiz ve bakteriler arasındaki rekabetten dolayı düşük olduğu öngörüldü.

Antioksidan aktivitelerine bakıldığında 1 g bakterili yoğurttaki antioksidan aktivitesinin daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni fenolik miktarındaki daha fazla olan artış ve polifenol miktarındaki azalıştır (Mc Cue and Shetty 2004). En yüksek antioksidan aktivitesinin 16. saatte 0,5g bakterili yoğurtta %55 olarak gözlendi.

β-glukozidaz aktivitesine bakıldığında en yüksek aktivitenin 1g bakterili yoğurtta $6{,}6.10^{-2}$ micromol/dk/mg olduğu gözlemlendi. Bunun nedeni fenolik bileşik miktarının düşük polifenol miktarının yüksek oluşudur (Makkar ve Tsuneda, 2001). Böylece denemelerde 1 g bakteri kullanımı uygun bulundu.

Çalışmamızın üçüncü kısmında MRS Broth besi ortamında 1 g bakteri ile 24 saat ve 24 saatten fazla bekletilerek üretilen bakterilerle hazırlanan yoğurt örneklerinde bütün aktivasyon testleri yapıldı.

Fenolik madde miktarı; MRS Broth ortamında 24 saat bekletilerek üretilen bakterilerle hazırlanan yoğurttaki fenolik bileşik miktarı 8. saatte 2,76 mg/ml 24 saatten fazla bekletilende ise 2,75mg/ml olduğu görüldü. Bu değerin kuru bakteri ile hazırlanan yoğurttaki miktara göre yaklaşık olarak 9 kat daha fazladır. Bunun nedeni yeni üretilmiş bakterilerin aktifliklerin daha fazla olmasıdır. 8.saatten sonra büyük farklılıklar gözlenmemiştir.

Antioksidan aktivitelerine bakıldığında maksimum aktivite 24 saat besi ortamında üretilen bakterilerle hazırlanan yoğurta 48. saatte % 36 olarak gözlendi. Antioksidan aktiviti polifenol miktarı ile doğru orantılı olarak arttığı için 48. saatte minimum fenolik bileşik miktarı bulunduğu için 24 saat MRS Broth ortamında yetiştirilen bakterili yoğurttaki aktivite en yüksek çıkmıştır (McCue P ve Shetty 2004).

β glukozidaz aktivitelerine bakıldığında ise en yüksek aktivitenin kuru bakteri ile mayalanan yoğurt örneğinde 6,6.10 $^{-2}$ micromol/dk/mg olduğunu gözlendi. Bunun nedeni fenolik bileşik miktarının en düşük polifenol miktarının yüksek olan örneğin kuru bakterili probiyotik yoğurt olmasıdır (Makkar ve Tsuneda A 2001).

Protein miktarlarına bakıldığında ise 24 saat ve 24 saatten fazla MRS broth ortamında bekletilen bakterilerin protein tayininde farklılığın olmadığı en yüksek miktarın kuru bakteri ile mayalanan yoğurt örneğinde olduğunu gözlendi.

Çalışmanın dördüncü kısmında kateşol ilave edilmiş MRS Broth ortamında yetiştirilen bakteri ile hazırlanan yoğurttaki aktivasyon testleri yapıldı. Kuru bakteri ile hazırlanan yoğurt örnekleri ile karşılaştırıldı.

Fenolik bileşik miktarlarına bakıldığında kateşol adapteli bakterilerle hazırlanan yoğurttaki 8, 16 ve 24. saatlerde fenolik bileşik miktarlarının sırasıyla 0,91 mg/ml 0,93 mg/ml ve 0,22 mg/ml iken kuru bakteri ile mayalanan yoğurt örneğin de aynı saatlerdeki fenolik miktarı 0,36, 0,224 ve 0,17dir. Daha sonraki saatlerde ise çok fazla farkın olmadığı görüldü sadece 40. saatte kuru bakterili probiyotik yoğurttaki fenolik miktarının daha fazla olduğu görüldü.

Antioksidan aktivitelerine bakıldığında 8. saatte kateşol adapteli bakteri içeren yoğurttaki antioksidan aktivitesi % 9 iken, kuru bakteri içeren yoğurttaki aktivitenin % 17 olduğu görüldü. Bunun nedeni kuru bakteri içeren yoğurttaki polifenol miktarının daha fazla olmasıdır (McCue P and Shetty 2004). 16.saatte kateşol adapteli bakteri içeren yoğurttaki antioksidan aktivitesi % 16 iken polifenol miktarı fazla olmasına karşın kuru bakteri ile mayalanan yoğurtta % 14,7 dir. Diğer saatlerde 32. saat hariç antioksidan aktivitesi kuru bakteri içeren yoğurtta daha çok bulunmuştur.

β-glukozidaz aktivitelerine bakıldığında substrat adapteli bakteri içeren yoğurtta 8, 16 ve 24. saatlerde sırasıyla $5{,}92.10^{-2}$, $6{,}6.10^{-2}$, $5{,}2.10^{-2}$ micromol/dk/mg olduğu görüldü. Aynı saatlerde kuru bakteri içeren yoğurtta $2{,}09.10^{-2}$, $2{,}24.10^{-2}$ ve $1{,}8.10^{-2}$ micromol/dk/mg olduğu görüldü. Bunun nedeni fenolik bileşik miktarının düşüklüğü polifenol miktarının fazla oluşudur (Makkar RS, Tsuneda A 2001).

Sonuç olarak;

Tezimizde probiyotik yoğurt üretiminde en çok kullanılan probiyotik bakteri; *Lactobacilluous L. acidophilus* içeriğinde safsızlık olarak % 2-3 civarında *Lactabacilluous bulgaricus* ve S*treptococus thermofilus* içermektedir. Bu halde kullanımı yoğurt aroması bakımından tercih edilmektedir. Bu bakımdan çalışmada ticari bakteri olduğu gibi kullanılmıştır.

Örneklerin analizlerinde; zamana bağlı olarak; genellikle fenolik madde miktarının ilk 24 saat boyunca arttığı sonraki saatlerde azaldığı, antioksidan aktiviteleri zamana bağlı değişiklik göstermekle birlikte fenolik madde miktarına paralel değişim gösterdiği bulundu.

Fenolik, polifenolik ve fenolik-karbonhidratlı bileşikleri substrat olarak kullanan bakteri içeriğindeki lakkaz, peroksidaz ve β-glukozidaz enzim aktiviteleri de araştırıldığında, zamana bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte lakkaz enzimi ile hidrolizlenmeleri lakkazın aktivite artışı ile izlendi. Peroksidaz aktivitesi, lakkaz hidrolizli ürünlere bağlı olduğundan aktivite değişimleri paralel bulundu. β-glukozidaz aktiviteleri 16. saatte yükseldi.

Aynı miktar süte karşı değiştirilen bakteri miktarlarında en fazla değişim yine 1/19 (mg bakteri/ml süt) oranında bulundu.

MRS Broth ortamında 24 saat büyütülen bakteri kullanılarak hazırlanan yoğurt örneklerinin analizlerinde genelde fenolik madde miktarı ve antioksidan aktiviteleri daha yüksek bulundu. Bu daha genç bakterilerin daha etkili olduğunu gösterir.

MRS Broth ortamında büyütülmüş bakterilerin kateşol adapte edilmesinden sonra kullanıldığı probiyotik yoğurt örneklerinin; gerek fenolik madde miktarları gerekse β-glukozidaz aktivitesi daha fazla çıkarken antioksidan aktivitesi daha düşük çıkmıştır.

KAYNAKLAR

1. Analie Lourens- Hattingh, Bennie C. Vilijoen (2001) ; "Yoğurt as probiotic carrier food" International Dairy Journal 1-17
2. Arpacık R (1999): *Entansif Sığır Besiciliği*. 3. baskı, Ankara., Coşkun B, Şeker E, İnal F (2000)Fuller R (1989). Probiotics in man and animals. J Appl Bact;66: 365-378,.
3. Band L, Ciofi-Baffoni S,Tien M (1999) lignin and peroxidase – catalyzed oxidation of phenolic lignin oligomers . Biocemistry ; 38:3205 10.
4. Bennie Analie Lourens-Hattıngh, Bennie C Vıljoen(2001) International dairy journal 11:1-21-2, 1-17, Elsevier Science,
5. Dr fatih EZGÜ(2006), "çocuk beslenmesinde yeni görüşler "gazi üniversitesi tıp fakültesi pediatrik beslenme ve metabolizma ünitesi
6. Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, 35100, Bornova, İzmir, Türkiye
7. ESPGHAN Committee(2004) on Nutrition: Agostini C, Axelsson I, Goulet O, et al. Prebiotic oligosaccharides in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr; 39: 465-473
8. E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Süt Teknolojisi Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. 188 + XVI Sf. Bornova - İzmir.
9. Gibson, G.R., Berry Ottaway, P. and Rastall, R.A. (2000). Prebiotics: New Developments in Functional Foods. Chandos Publishing Limited, Oxford.
10. Gibson GR, Roberfroid(1995) MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr; 125: 1401-1412.

11. Giudici, P. Masini(1996) ; The role of galactose fermenting yeast in plain yogurt spoilageet al., 2001; Gerasi et al., 2003; Hynes et al., 2003;
12. Goodenough, E.L., & Klein , D. II. (1976). Qualitative and quantitative changes in carbohydrates during the manufacture of yogurt journal of dairy science , 59,45,47
13. Hansen, B.V., Houlberg, U., Ardö, Y. 2001 a Cheese Related *Lactobacillus* Dairy J.11: 225 233
14. "Hayvan Beslemede Probiyotikler" Tarım Bakanlığının Bildirisi 2005
15. Holzapfel WH, Schillinger U (2002) ıntroductıon to pre- and probıotıcs. Food Res Int 35: 109-116
16. Karagözlü, C. (1990). Farklı ısıl işlem uygulanmış inek sütlerinden kefir kültürü ve tanesi ile üretilen kefirlerin dayanıklılığı ve nitelikleri üzerine araştırmalar.
17. Kullen, M.J. and T.R. Klaenhammer. (1999). Genetic modification of intestinal lactobacilli and bifidobacteria. In Probiotics: a Critical Review. G. Tannock (ed) Horizon Scientific Press, Wymondham, U.K., pp. 65-83.
18. Lang F. & Lang , A.(1975). Acidophilus milk products : litle known cultured milks of great potential. The milk inustry, 77, 4-6
19. Lowry,O.H.,Rosgrough,N.J.,Farr,A.L.,Randall,R.J.,(1951):Protein measurement with the folin phenol reagent.J.Biol.Chem.193:265-275.
20. Makkar RS , Tsuneda ,Tokuyasu K, Mori Y, (2001) Lentinula edodes produces a multi – component protein complex containing manganase (II) –dependent peroxidase laccase and beta glucosidase .FEMS Microbial Lett;200;175-9
21. Manning TS, Gibson GR (2004). Prebiotics. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2004; 18: 287-298.

22. Majcherczyk A and Johannes C,Hutterman A (1999).oxidation of aromatic alcohols by laccase from Trameters versicolor metiated by the2,2-azino-bis-(3 etilbenzotihazolin-6- sulfonik asit) ABTS cation radical and di cation Appl microbial biotechnol;51(2):267-76
23. McCue P Shetty K (2003) role of carbonhydrate- cleaving enzymes in phenolic antioxidant mobilization from whole soybean fermented with Rhizopus oligosporus. Food biotechnol;17(1):27 37
24. Peterson J, Dwyer J (1998) Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutr Res* **18**: 1995–2018
25. Prof. Dr. Ahmet AYDIN Gida Raporu (2006)
26. Prof Dr. Turgay Çoşkun (2006) çocuk sağlığı ve hastalıkları dergisi cilt 49 sayı: 2
27. Rastall RA, Maitin V (2002). Prebiotics and synbiotics: towards the next generation. Curr Opin Biotechnol ; 13: 490-496.
28. Robert Penner, Richard N Fedorak, Karen L Madsen J Nutr. 2006 Jun; 136:1483-7 16702308
29. Tbp. Kd. Ütğm. Murat Pınar; "Probiyotikler" Sözlü sunum(2002)
30. www.odevsitesi.com/odevler/arsiv1/23820-probiotikler.htm
31. www.gidaraporu.com/gida_probiyetikler-insan-sagligi-onemi.htm
32. www.kefirtanesi.com
33. Yamamoto N, Akino A, Takano T (1993). Purification and specificity of cell wall – associateted protainase from lactabacilluous helveticus CP790,J Biochem Tokyo ;114 740-5
34. Young RJ, Huffman S (2003). Probiotic use in children. J Pediatr Health Care 2003; 17: 277-283.

TEŞEKKÜR

Tezimde sürekli bana yol gösteren, bana tezim boyunca destek olan, çalışmalarımı sabırla bekleyen değerli hocam Doç. Dr Ayten SAĞIROĞLU' na

Yardımlarını benden esirgemeyen ve sürekli olarak destek olan eşim Fatmanur NAYİR, annem Aysel NAYİR ve babam Vahit NAYİR' e

Çalışmalarım da bana yardımcı olan Arş. Görevlisi Hakkı ÖZCAN arkadaşıma ve deneysel aşamalarda ve araştırmalarda bana destek olan Hatice PALUZAR' a

Probiyotik bakteri yetiştirme konusunda çok yardımları olan biyoloji bölümünden Dr. Burhan ŞEN ve Dr. Suzan ÖKTEN' e

Sonsuz teşekkürler

Suat Metin NAYİR

Özgeçmiş

14/07/1979 yılında Edirne'de doğdum. İlk ve orta öğretimimi Edirne'de tamamladıktan sonra 1998 yılında Dokuz Eylül Üniversitesi Eğitim Fakültesi kimya öğretmenliği bölümünde lisans eğitimine başladım. 2003 yılında üniversiteden mezun oldum. 2002-2003 yılları arsında Rua Deterjan atölyelerinde; 2003 -2006 yılları arasında dershanede; 2006 – 2007 yılında kolejde; 2007 yılında tekrar dershanede çalışmaya başladım ve halen dershanede çalışmaya devam ediyorum.

Suat Metin NAYİR