EÜ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EGE ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PREBİYOTİK İLAVE EDİLEN FERMENTE SÜTLERDE BAKTERİ CANLILIĞININ VE PROBİYOTİK BAKTERİLERİN *İN VİTRO* GASTROİNTESTİNAL SİNDİRİM KOŞULLARINA TOLERANSLARININ BELİRLENMESİ

Esra KOÇER

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Gülfem ÜNAL

Süt Teknolojisi Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi : 12.09.2017

Bornova-İZMİR
2017

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

PREBİYOTİK İLAVE EDİLEN FERMENTE SÜTLERDE BAKTERİ CANLILIĞININ VE PROBİYOTİK BAKTERİLERİN *İN VİTRO* GASTROİNTESTİNAL SİNDİRİM KOŞULLARINA TOLERANSLARININ BELİRLENMESİ

Esra KOÇER

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Gülfem ÜNAL

Süt Teknolojisi Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi : 12.09.2017

Bornova-İZMİR

2017

Esra KOÇER tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan "Prebiyotik İlave Edilen Fermente Sütlerde Bakteri Canlılığının ve Probiyotik Bakterilerin *İn Vitro* Gastrointestinal Sindirim Koşullarına Toleranslarının Belirlenmesi" başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 12.09.2017 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/~~oyçokluğu~~ ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:		**İmza**
Jüri Başkanı	: Doç. Dr. Gülşen ÜNAL	.....
Raportör Üye	: Prof. Dr. A. Sibel AKALIN	.....
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Nuray KARAGÖZLÜ	.....

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum "Prebiyotik İlave Edilen Fermente Sütlerde Bakteri Canlılığının ve Probiyotik Bakterilerin *İn Vitro* Gastrointestinal Sindirim Koşullarına Toleranslarının Belirlenmesi" başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

12 / 09 / 2017



Esra KOÇER

ÖZET

PREBİYOTİK İLAVE EDİLEN FERMENTE SÜTLERDE BAKTERİ CANLILIĞININ VE PROBİYOTİK BAKTERİLERİN *İN VİTRO* GASTROİNTESTİNAL SİNDİRİM KOŞULLARINA TOLERANSLARININ BELİRLENMESİ

KOÇER, Esra

Yüksek Lisans Tezi, Süt Teknolojisi Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülfem ÜNAL
Eylül 2017, 85 sayfa

İnulin, polidekstroz ve Hi- maize dirençli nişasta ilavesinin ABT fermente sütteki kültür bakterileri canlılığına ve *Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12'nin simüle gastrointestinal sindirim koşulları altında canlılığına (*L.acidophilus* La-5, *B.animalis* subsp. *lactis* Bb-12 ve *Streptococcus thermophilus*) etkisi 28 günlük depolama süresince araştırılmıştır. Prebiyotiklerin duyusal özelliklere etkisi de depolama boyunca değerlendirilmiştir.

Probiyotik bakteri canlılığı depolama süresi boyunca 6-8 log kob/ g arasında değişmiş ve prebiyotikler depolama boyunca *L.acidophilus* La-5 ve *B. animalis* Bb-12 canlılığı üzerinde etkili olmamıştır. *B.animalis* Bb-12 gastrointestinal stres altında *L.acidophilus* La-5'a göre daha yüksek oranlarda canlılık göstermesine rağmen her iki probiyotik bakteri canlılığı *in vitro* deney süresince tüm örneklerde azalma göstermiştir. Düşük pH (2.2-2.6) koşullarına maruz kalma, *L.acidophilus* La-5 canlılığında *B.animalis* subsp. *lactis* Bb-12'ye kıyasla önemli ölçüde daha fazla azalmaya neden olmuştur.

İnülin ilavesi gastrik ve enterik faz I'de diğer prebiyotiklere göre *L.acidophilus* La-5 sayısını arttırmasına rağmen enterik faz II sonunda tüm örnekler benzer *L.acidophilus* La-5 canlılığı göstermiştir. Hi-maize ilavesi 14. ve

28. günlerde *B.animalis* Bb-12'nin simüle gastrointestinal koşullara toleransı üzerinde koruyucu bir etki göstermiştir. İnülin veya Hi-maize dirençli nişasta ilavesi fermente sütlerin duyusal özelliklerini etkilemezken polidekstroz ilave edilen ürün özellikle depolama sonunda en düşük puanları almıştır.

Anahtar sözcükler: Probiyotik, Prebiyotik, Fermente süt, *İn vitro* gastrointestinal canlılık.

ABSTRACT

DETERMINATION OF STARTER BACTERIA VIABILITY AND PROBIOTIC *IN VITRO* GASTROINTESTINAL DIGESTION TOLERANCE IN FERMENTED MILK ADDED WITH PREBIOTICS

KOÇER, Esra

MSc in Department of Dairy Technology
Supervisor: Doç. Dr. Gülfem ÜNAL
September 2017, 85 pages

The effect of inulin, polydextrose and Hi-maize resistant starch on culture bacteria viability and *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 survival under simulated gastrointestinal conditions in ABT (*L.acidophilus* La-5, *B.animalis* Bb-12 and *Streptococcus thermophilus*) fermented milk was investigated during 28 days of storage. The impact of prebiotics on sensory characteristics was also assessed.

Probiotic viabilities ranged from 6 to 8 log cfu/g throughout the storage period, and none of the prebiotics affect the viable counts of La-5 and Bb-12. Bb-12 presented higher survival rates under gastrointestinal stress than *L.acidophilus* La-5 did however, both probiotic viability decreased during the *in vitro* assay in all the treatments. Exposure to conditions of low pH (2.2-2.6) resulted in a significant higher reduction in La-5 viability than that of Bb-12.

Although inulin addition enhanced viable counts of La-5 more than those of other prebiotics during gastric and enteric- I phases, all samples showed similar La-5 survival after enteric-II phase. The supplementation with Hi-maize indicated a protective effect on Bb-12 tolerance to simulated gastrointestinal conditions on 14^{th} and 28^{th} days. Inulin or Hi-maize did not affect the sensory properties of

fermented milk whereas the product supplemented with polydextrose had the lowest scores specifically at the end of the storage.

Keywords: Probiotic, Prebiotic, Fermented milk, *In vitro* gastrointestinal survival.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca her aşamada bana yol gösteren, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve üzerimde büyük emeği olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Gülfem ÜNAL'a en içten duygularımla teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında katkılarını esirgemeyerek destek olan Araş. Gör. Dr. Elif ÖZER, Ziraat Mühendisi Merve AKTAŞ ve Ziraat Mühendisi H. Semih ACAR'a teşekkürü borç bilirim.

Deneyimlerini bizimle paylaşan Yüksek Lisans Tez Komitesi'nin değerli üyeleri Prof. Dr. A. Sibel AKALIN'a ve Yrd. Doç. Dr. Nural KARAGÖZLÜ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Duyusal analizlerin gerçekleştirilmesinde katkıları nedeniyle Süt Teknolojisi Bölümü Öğretim Üyelerine teşekkürlerimi sunarım.

Tez Projemizi maddi açıdan destekleyen E.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen her daim yanımda olan çok değerli annem Zehra ve babam Hasan KOÇER ve kardeşim Eray KOÇER'e; tez çalışmam sırasında manevi yönden destek olan Göksel Özkan HEKİMOĞLU ve İrem KARAAHMETOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET vii

ABSTRACT ix

TEŞEKKÜR xi

ŞEKİLLER DİZİNİ xvii

ÇİZELGELER DİZİNİ xx

1. GİRİŞ 1

2. LİTERATÜR ÖZETİ 5

2.1 Probiyotikler 5

2.2 Prebiyotikler 6

2.3 İnulin 7

2.4 Polidekstroz 8

2.5 Hi-maize Dirençli Nişasta 9

2.6 Fermente Süt Ürünlerinin *İn Vitro* Gastrointestinal Sindirim Modellerinde Değerlendirilmesi İle İlgili Yapılan Çalışmalar 10

3. MATERYAL VE YÖNTEM 13

3.1 Materyal 13

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.1.1 Süt 13

3.1.2 Starter kültür 13

3.1.3 Prebiyotikler.....13

3.1.4 Süttozu 13

3.2 Yöntem 13

3.2.1 Fermente süt kültürünün hazırlanması.....13

3.2.2 Fermente süt üretimi 14

3.2.3 Analizler.....16

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 21

4.1 Fermente Süt Üretiminde Kullanılan Çiğ Sütün Bileşimi 21

4.2 Fermente Süt Ürünlerinin Kimyasal Özellikleri 22

4.2.1 Kurumadde.....22

4.2.2 Yağ.....23

4.2.3 Protein 24

4.2.4 pH.....26

4.2.5 Titrasyon asitliği (% Laktik asit) 28

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4.3 Fermente Süt Ürünlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri 30

4.3.1 *Streptococcus thermophilus* canlılığı 30

4.3.2 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* canlılığı 32

4.3.3 *Lactobacillus acidophilus* canlılığı 34

4.4 Probiyotik Bakterilerin *İn Vitro* Gastrointestinal Sindirim Koşulları Altındaki Canlılıkları 37

4.4.1 *Lactobacillus acidophilus* canlılığı 37

4.4.2 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* canlılığı 44

4.5 Probiyotik Bakterilerin *İn Vitro* Sindirim Koşullarını Oluşturan Fazlardaki Canlılıklarının Depo Süresince Gözlenen Değişimleri 51

4.5.1 *Lactobacillus acidophilus* canlılığı 51

4.5.2 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* canlılığı 54

4.6 Fermente Sütlerin Duyusal Özellikleri 58

4.6.1 Tat 59

4.6.2 Aroma 61

4.6.3 Görünüş 62

4.6.4 Tekstür 64

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4.6.5 Toplam kabul edilebilirlik.....66

5. SONUÇ.....69

KAYNAKLAR DİZİNİ.....72

ÖZGEÇMİŞ.....85

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil Sayfa

3.1. Fermente süt üretim akış şeması 15

3.2. Çalkalamalı su banyosu cihazının görünüşü 19

4.1. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama kurumadde miktarları 23

4.2. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama yağ miktarları 24

4.3. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama protein miktarları 25

4.4. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama pH değerleri değişimi 27

4.5. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama % laktik asit değerleri değişimi 29

4.6. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Streptococcus thermophilus* sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi 31

4.7. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi 33

4.8. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi 36

4.9. Probiyotik fermente süt ürünlerinin 1. gününde *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi 38

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil Sayfa

4.10. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 14. gününde *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi.....40

4.11. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 28. gününde *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi.....42

4.12. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 1. gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi 45

4.13. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 14. gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi 47

4.14. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 28. gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi 48

4.15. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) Gastrik Faz'da depolama süresince değişimi 52

4.16. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) Enterik Faz I'de depolama süresince değişimi 53

4.17. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) Enterik Faz II'de depolama süresince değişimi 54

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil Sayfa

4.18. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) Gastrik Faz'da depolama süresince değişimi 55

4.19. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) Enterik Faz I'de depolama süresince değişimi 57

4.20. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) Enterik Faz II'de depolama süresince değişimi 58

4.21. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama süresince ortalama tat değerleri değişimi 60

4.22. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama aroma değerleri değişimi 62

4.23. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama görünüş değerleri değişimi 64

4.24. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama tekstür değerleri değişimi 66

4.25. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama toplam kabul edilebilirlik değerleri değişimi 68

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge Sayfa

3.1 Fermente süt duyusal analiz formu 20

4.1. Fermente süt üretiminde kullanılan sütün özellikleri.....21

4.2. Fermente süt ürünlerindeki kurumadde oranları 22

4.3. Fermente süt ürünlerindeki yağ miktarı 24

4.4. Fermente süt ürünlerindeki protein miktarı.....25

4.5. Fermente süt ürünlerindeki depolama sırasındaki pH değerleri.....26

4.6. Fermente süt ürünlerindeki depolama sırasındaki laktik asit değerleri 28

4.7. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama sırasındaki *Streptococcus thermophilus* sayıları.....30

4.8. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama sırasındaki *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayıları.....32

4.9. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama sırasındaki *Lactobacillus acidophilus* sayıları.....35

4.10. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 1. gününde *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi 38

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Çizelge Sayfa

4.11. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 14. gününde *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişim 39

4.12. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 28. gününde *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi 41

4.13. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 1. gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi 45

4.14. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 14.gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi 46

4.15. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 28.gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi 47

4.16. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayısının Gastrik Faz'da depolama süresi boyunca değişimi 51

4.17. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayısının Enterik Faz I'de depolama süresi boyunca değişimi 52

4.18. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayısının Enterik Faz II'de depolama süresi boyunca değişimi 53

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Çizelge Sayfa

4.19. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayısının Gastrik Faz'da depolama süresi boyunca değişimi 55

4.20. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayısının Enterik Faz I'de depolama süresi boyunca değişimi 56

4.21. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayısının Enterik Faz II'de depolama süresi boyunca değişimi 57

4.22. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama tat değerleri 60

4.23. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama aroma değerleri 61

4.24. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama görünüş değerleri 63

4.25. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama tekstür değerleri 65

4.26. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama toplam kabul edilebilirlik değerleri 67

1. GİRİŞ

Fonksiyonel gıda pazarı, tüketicilerin sağlıklı gıdalara olan ilgisinin gittikçe artmasından dolayı dünya çapında büyüme göstermektedir. Yeterli miktarda tüketildiğinde besleyici etkisinin ötesinde vücutta bir veya daha fazla hedef fonksiyonu olumlu yönde etkileyebilen ve biyolojik olarak aktif bileşenler içeren fonksiyonel gıdaların önemli bir kısmını probiyotik içeren gıdalar oluşturmaktadır (Mohammadi and Mortazavian, 2011).

Bağırsak mikroflorası vücudun tümüyle sağlıklı olabilmesi bakımından oldukça büyük öneme sahiptir. Bundan dolayı bağırsak mikroflorasında meydana gelen herhangi bir değişiklik; metabolik bozukluklara, kronik iltihaplanmalara ve enfeksiyon hastalıklarına hassasiyete yol açarak konakçının sağlığını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Bu tür sonuçlarla karşılaşmamak için bağırsak ekosisteminin sağlıklı durumunun sürekliliği gerekmektedir. Bu amaçla probiyotik ve prebiyotik içeren gıdalar gibi fonksiyonel gıdaların tüketimi önem kazanmaktadır (Nazzaro et al., 2012).

Probiyotikler gastrointestial bölgede kolonize olabilen ve yeterli miktarda alındıklarında konakçıya sağlık açısından yarar sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (FAO/WHO, 2002; Casarotti et al., 2015b). Fermente süt ve diğer süt ürünlerinde probiyotik amaçlı kullanılan bakterilerin birçoğu *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* genusuna aittir. Probiyotik özellikteki mikroorganizmaların anti-mutajenik ve anti-kanserojenik etki göstermeleri, bağışıklık sistemini uyarmaları, enfeksiyonları gidermeleri, serum kolesterol düzeylerini düşürmeleri, laktoz intolerans belirtilerini azaltmaları, diyareyi durdurmaları ve kan basıncını düzenlenmeleri gibi birçok sağlık faydaları olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Shah, 2001; Lamsal and Faubion, 2009; Agrawal, 2009; Fung et al., 2009; Mortazavian et al., 2010; Korbekandi et al., 2011).

Probiyotik organizmaların söz konusu sağlık yararlarını gösterebilmeleri için son üründe canlı olarak belirli bir oranda bulunmaları gerekmektedir (Mohammad and Mortazavian, 2011). Bu oran birçok ülkede geçerli olan düzenlemelere göre minimum 10^6 kob/g olarak kabul edilirken bazı kaynak ve

standartlarda 10^7-10^8 kob/g düzeyinde olması tavsiye edilmektedir (Tamime et al., 2005; Mortazavian and Sohrabvandi, 2006; Korbekandi et al., 2011). Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde ise fermente sütlerde bulunması gereken toplam spesifik mikroorganizma sayısı minimum 10^7 kob/g olarak belirtilmiştir (Anonim, 2009).

Probiyotiklerin tüketildikten sonra gastrointestinal bölgede ve özellikle kalın bağırsakta mümkün olduğunca yüksek oranda canlı kalması istenmektedir. Bir probiyotik bakterinin bağırsakta, tüketim anında ve probiyotik bakteri içeren gıdanın son kullanım tarihine kadar üründe yüksek oranda canlı kalabilmesinin sağlanması için önerilen yollardan birisi prebiyotik kullanımıdır (Gopal et al., 2001).

Prebiyotikler, kolonda bir veya birkaç bakterinin gelişimini ve/veya aktivitesini seçici olarak uyararak konakçı sağlığına yarar sağlayan ve ince bağırsakta sindirilemeyen gıda ingrediyenleri olarak tanımlanmaktadır. Prebiyotik özellikteki bir ingrediyenin; sindirime karşı dirençli olması, kalın bağırsak mikroflorası tarafından fermente edilebilir olması ve sağlığı iyileştirici yönde fayda sağlayacak şekilde etki göstermesi gerekmektedir (Figueroa-Gonzàlez et al., 2011). Günümüze kadar yapılan birçok çalışmada, fermente süt ürünleri üretiminde bazı *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerinin gelişim ve aktivitelerini arttırmak üzere farklı prebiyotikler (örn; laktuloz, inulin, mısır nişastası, β-glukan, laktitol, Hi-maize dirençli nişasta, rafinoz, maltodekstrin) kullanılmış (Shin et al., 2000; Desai et al., 2004; Özer vd., 2005; Martínez-Villaluenga et al., 2006; Aryana et al., 2007; Vasiljevic et al., 2007; Akalın vd., 2007; Noubakhti et al., 2009; Oliveira et al., 2009; Akalın ve Ünal, 2010; Heydari et al., 2011; Oliveria et al., 2011; Srisuvar et al., 2013) ve son üründe bakteri canlılığı, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal özellikler belirlenmiştir.

Prebiyotikler arasında inulin, çözünebilir ve fermente edilebilir bir diyet lifi olup herhangi bir değişikliğe uğramadan kalın bağırsağa ulaşmakta ve burada bakteriler tarafından hidrolize edilmektedir (Mohammadi and Mortazavian, 2011). İnulinin fermente süt ürünleri üretiminde prebiyotik amaçlı kullanımının en önemli sebebi ise mide koşullarına dirençli olmasıdır.

Polidekstroz ise %90 oranında çözünebilir lifleri içeren ve rastgele çapraz bağlanmış glukozlardan oluşan düşük molekül ağırlıklı bir polisakkarittir. Çözünürlüğünün yüksek olması ve nötral bir tada sahip olması onu tercih edilen diyet liflerinden biri haline getirmektedir. Polidekstroz, gastrointestinal sistemin üst kısmında sindirilmemekte ancak sistemin alt kısmında kısmen fermente olmakta ve böylece sindirim sisteminin sağlığı için yararlı bileşenler meydana getirmektedir. Polidekstroz bu özelliği ile birçok ülkede diyetetik lif olarak kabul görmektedir (Craig et al., 1999; Oliveira et al., 2009). Polidektroz ilaveli probiyotik yoğurt içeren diyet ile beslenen ve sindirim rahatsızlığı bulunan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada da olumlu sonuçlar alınmıştır (Magro et al., 2014).

Bu alanda yer alan diğer bir prebiyotik grup olan dirençli nişastalar da ince bağırsakta gerçekleşen sindirime direnç göstererek kalın bağırsağa geçmekte ve diyetetik lif gibi özellik göstermektedir. Hi-maize dirençli nişasta amiloz miktarı oldukça yüksek olan mısırın özel bir hibridinden izole edilmekte ve çeşitli işlemlerden geçtikten sonra toz haline getirilmektedir.

Probiyotik bakteri alımında temel diyet kaynağı fermente süt ürünleridir (Casarotti and Penna, 2015a). *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* probiyotik özellikte en sık kullanılan laktik asit bakterileridir. Bu bakteriler düşük proteolitik aktiviye sahip olduklarından sütte yavaş gelişmekte ve bu yüzden de çoğunlukla *Streptococcus thermophilus* ile birlikte kullanılmaktadır. Söz konusu üç bakterinin birlikte kullanılması hem teknolojik açıdan arzu edilen özelliklere hem de potansiyel besleyici ve sağlık yararlarına sahip fermente süt ürünü eldesine olanak vermektedir (Casarotti et al., 2014a).

Fermente süt ürünlerinde probiyotik bakteri canlılığını üretimde kullanılan ingrediyenler de dahil olmak üzere birçok faktör etkilemektedir. Bu noktada üretimde kullanılacak prebiyotik çeşidinin seçimi büyük önem taşımaktadır. Diğer yandan prebiyotik ilaveli fermente süt ürünlerinde probiyotik bakteri canlılığı gastrointestinal bölge koşulları dikkate alınarak ürünün raf ömrü boyunca değerlendirilmelidir. Ayrıca üzerinde çalışılan gıda matriksinin de probiyotik

bakterilerin gastrointestinal koşullara dirençliliği ve gösterecekleri fonksiyonel özellikler üzerinde etkili olduğu unutulmamalıdır (Ranadheera et al., 2012).

Son yıllarda insan sağlığına olumlu etkileri olduğu bilinen biyoaktif bileşenleri korumak ve onlardan daha fazla yararlanmak üzere yeni gıda koruma sistemleri geliştirilmektedir. Söz konusu sistemler biyoaktif bileşenlerin insan gastrointestinal bölgesinin spesifik bir yerinde pH, iyonik güç veya enzim aktivitesi gibi çevresel faktörlere dayanıklı olacak şekilde dizayn edilmektedir. Yeni geliştirilen bu sistemlerin test edilmesinde kullanılan sindirim modellerinin kullanılabilirliği insan gastrointestinal bölgesindeki kompleks fizikokimyasal ve fizyolojik olayları ne derece doğru bir şekilde taklit ettiğine bağlıdır (McClements et al., 2009). *İn vitro* sindirim modelleri, gıda bileşenlerinin taklit edilmiş gastrointestinal koşullar altında yapısal değişimlerini, sindirilebilirliklerini ve serbest hale geçmelerini incelemede yaygın olarak kullanılmaktadır. Buna karşın, insan ve hayvan sindirim sisteminde meydana gelen oldukça kompleks fizikokimyasal ve fizyolojik reaksiyonların hassas ve doğru bir şekilde taklit edilmesinde bazı zorluklar ile karşılaşılmaktadır. Bundan dolayı, *in vitro* sindirim modellerinde elde edilen sonuçlar bazen *in vivo* model sonuçlarından farklı olabilmektedir. Çeşitli gıdalar üzerinde uygulanan *in vitro* sindirim modelleri incelendiğinde sıklıkla kullanılan biyolojik moleküllerin sindirim enzimleri (pepsin, pankreatin, tripsin, kimotripsin, peptidaz, α-amilaz ve lipaz), safra tuzları ve mukusun ana maddesi olan yapışkan sıvı (müsin) olduğu görülmektedir. Uygulanan tüm *in vitro* sindirim modellerinde sindirim sıcaklığı 37°C ve sindirim süresi de çoğunlukla mide, ince bağırsak ve kalın bağırsak olmak üzere her aşama için 2 saat olarak seçilmektedir (Hur et al., 2011).

Bu tez projesinin amacı; inulin, polidekstroz ve Hi-maize dirençli nişasta ilavesinin ABT (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus*) fermente süt ürününde 28 günlük depolama boyunca bakteri canlılığına ve *in vitro* gastrointestinal sindirim koşulları altında probiyotik bakteri canlılığına etkisinin ortaya konmasıdır. Bunun yanında üretilen fermente sütlerde duyusal analiz yapılarak ürünlerin tüketici tarafından kabul edilebilirliği hakkında bilgi edinmek de amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Probiyotikler

Probiyotik kültürler ve prebiyotik bileşenler içeren gıdaların tüketilmesinin faydaları birçok bilimsel alanda gösterilmiştir (Sanders, 1998; Hamburger et al., 1999). Probiyotikler çoğunlukla bağırsak ortamının mikrobiyal dengesinin korunması ve / veya geliştirilmesi sırasında konakçıya sağlık yararları getirecek canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanabilir (Fuller, 1989; Shah, 2001). *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*, fermente sütlerin ve diğer süt ürünlerinin üretimi için probiyotik olarak kullanılan en yaygın bakteri türleridir (McFarland et al., 2006). Anti-mutagenik ve anti-karsinojenik etkiler, bağışıklık sisteminin uyarılması, anti-enfeksiyon özellikler, serum kolestrolünün düşürülmesi, laktoz intolerans semptomlarının hafifletilmesi ve besinsel iyileştirmeler de dahil olmak üzere probiyotiklerin sağlığa çeşitli etkileri bulunmaktadır (Shah, 2001; Agrawal 2009; Vinderola et al., 2000). Probiyotik organizmaların sağlık faydalarını gösterebilmeleri için, probiyotik ürünlerdeki her probiyotik suşun belirtilen asgari sayıda bulunması gerekir (Korbehandi et al., 2011; Tamime et al., 2005). Günümüzde 10^6 kob/g değeri birçok düzenlemede asgari düzey olarak görülmüştür, bazı kaynaklar ve standartlar tarafından ise asgari düzey 10^7-10^8 kob/g olarak önerilmiştir (Mortazavian and Sohrabvandi 2006; Korbehandi et al., 2011). Japonya'da ‘‘Fermente Sütler ve Laktik Asit Bakteriler Derneği’’ süt ürünlerinde en az 10^7 kob/g canlı probiyotik hücre bulundurmasını gerektiren bir standart geliştirmiş, buna karşın İsviçre Gıda Tüzüğü ve Standardı FIL / IDF (International Dairy Federation)’e göre ise en az 10^6 kob/g bulunması gerektiği bildirilmiştir (Anonim, 2009). Probiyotiklerin sağlık yararlarını gösterebilmeleri için kalın bağırsakta yeterli sayıda ve canlı olarak bulunmaları oldukça önemlidir. Probiyotikler, özellikle bağırsakta zararlı ve faydalı mikroflora arasındaki mikrobiyal dengenin korunması ve / veya geliştirilmesi için konakçı üzerinde olumlu etkilere sahip olan bakterilerdir (Mortazavian et al., 2006). Bu mikroorganizmalar genellikle süt ürünlerinde hatta çoğunlukla fermente süt ürünleri ile tüketilmektedir.

Özellikle fermente süt ürünleri, probiyotik mikroorganizmalarla uyumluluğu, duyusal profilleri ve ayrıca tüm dünyadaki yüksek tüketim

alışkanlıkları nedeniyle probiyotiklerin vücuda alınmasında önem taşımaktadır (Korbehandi et al., 2011, Mortazavian et al., 2011).

Simüle edilmiş *in vitro* gastrointestinal sindirim koşulları ile ilgili analizler bakterilerin hayatta kalması hakkında bilgi verebilmekte ancak hücrelerin probiyotik aktivitesini kaybedip kaybetmedikleri bu yolla anlaşılamamaktadır. Ayrıca, probiyotik hücrelerin terapötik etkilerini gösterebilmeleri için canlı olmak zorunda olmadıklarını belirten, ölü probiyotik hücrelerin, özellikle anti-inflamatuar etki konusunda yararlı etkiler gösterebileceklerini rapor eden bazı çalışmalar bulunmaktadır (Adams, 2010).

Ayrıca, probiyotiklerin kalın bağırsakta canlılığını korumanın yollarından biri de prebiyotik kullanımıdır (Gopal et al., 2001).

2.2 Prebiyotikler

Prebiyotik, ilk önce kolondaki bir veya birkaç bakterinin büyümesini ve / veya aktivitesini uyararak konakçıya yarar sağlayan, sindirilemeyen bir gıda maddesi olarak tanımlanmıştır (Gibson and Roberfriod, 1995). Daha sonra yapılan araştırmalarda ise bir prebiyotiğin yerinin sadece kolon olarak kısıtlanmaması gerektiği vurgulanmış ve bir prebiyotiğin, gastrointestinal mikrobiyotanın bileşimi ve / veya aktivitesinde spesifik değişikliklere izin veren seçici bir bileşen olarak tanımlanmıştır (Roberfroid, 2007a). Her iki tanımla ilişkili anahtar kavram prebiyotiklerin, mikrobiyotada seçici bir etkiye sahip olması ve bunun da konakçıyı iyileştirmesine yol açmasıdır (Steed and Macfarlane, 2009). Bir maddenin prebiyotik olarak tanımlanabilmesi için üç temel özelliği yerine getirmesi gerekmektedir (Macfarlane et al., 2006).

- Sindirime dirençli olmalı
- Kalın bağırsak mikrobiyotası tarafından fementasyona uğramalı
- Mikrobiyotaya ve sağlığa yararlı seçici bir etkisi olmalı

Bu nedenle prebiyotikler mikrobiyotayı uyarmak için kimyasal ve yapısal özellikleriyle değişikliğe uğramadan kalın bağırsağa erişmek zorundadırlar. Çoğu prebiyotik, pankreas enzimleri tarafından sindirime duyarlı olmayan, iki veya daha fazla polimerizasyon derecesine sahip kısa zincirli karbonhidratlardır (Steed and Macfarlane, 2009).

Gibson and Roberfroid (1995), prebiyotiklerin bir prebiyotik olarak tanımlanması için, kolondaki bir veya sınırlı sayıda bakterinin büyümesini ve / veya aktivitesini seçici olarak uyararak konakçıyı fayda sağlayan sindirilemeyen bir gıda maddesi olarak tanımlamaktadırlar.

Prebiyotiklerin, probiyotiklerin büyümesi ve / veya aktivitesi ve fermente sütte bakterilerin yaşayabilirliğini korumada yararlı etkisi bulunduğu ve prebiyotik ilavesinin insan sağlığının korunmasında önemli rolü olduğu belirlenmiştir. Farklı çalışmalara bakıldığında probiyotik fermente sütlere prebiyotik ilavesinin, depolama sonunda ve / veya depolama süresi boyunca probiyotik bakterilerin canlılığını önemli ölçüde artırdığı görülmektedir. Ayrıca prebiyotiklerin probiyotik canlılığı üzerindeki etkinliği; probiyotiklerin türü, prebiyotik türü, ürün spesifikasyonları ve saklama koşulları gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Mohammadi and Mortazavian, 2011).

Sindirilemeyen gıda bileşenleri olan prebiyotiklerin en yaygın olanları, frukto-oligosakaritler, inülin ve galakto-oligosakkaritlerdir (Roberfroid et al., 2010). Araştırmalar, aynı zamanda polidekstrozun da prebiyotik potansiyele sahip olduğunu düşündürmektedir.

2.3 İnulin

İnulin, ince bağırsakta sindirilmeyen ve pek çok işlenmiş gıdalarda diyet lifi olarak kullanılan, hindiba kökünden elde edilen ticari bir öneme sahip prebiyotik olarak kanıtlanmış bir bileşik olup ß-D bağlantılı düz zincirlerden oluşan bir yapıya sahiptir (Coussement, 1999). 1800'lerin başında Valentine Rose adında bir Alman bilim adamı, Elecampane bitkisinin köklerinden inulini keşfetmiş ve daha sonra Thomson tarafından inulin adını almıştır. Doğal inulin kaynakları; hindiba

kökleri, kudüs enginarı, kuşkonmaz, pırasa, soğan, muz, buğday ve sarımsaktır (Roberfroid, 2007b; Bornet, 2008).

İşlenmiş gıdalarda yağ ve şeker ikame maddesi olarak da kullanılan inulin sindirilebilir karbonhidratlara kıyasla % 25-35 daha fazla enerji verir. Tatlılık seviyesi sakkarozun % 10'u kadardır. Ayrıca sindirim sisteminde bağırsak mikroflorasının gelişimini teşvik eder ve kan şekeri düzeyini ayarlar, şeker hastalarına düşük kalorili gıdaların hazırlanmasında da kullanılmaktadır. Birçok gıdada nem, tat ve dokuyu iyileştirebilir, erime özelliği sayesinde tatlıların kolay işlenmesini sağlar. Yağ ve karbonhidrat yerine geçebilmesinden dolayı gıdalarda kullanarak daha fazla beslenme avantajı sağlamaktadır. Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)- kolesterol düzeylerini azaltmak için günlük alım miktarı 8-10 gr olarak belirlenmiştir (Abrams et al., 2005).

İnulin ayrıca işlenmiş gıdalarda, özellikle de bağırsaktaki yararlı bakterilerin yoğunluğunu artırmak amacıyla fermente süt ürünlerinin çoğunda kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılan araştırmalar fermente sütte inulin kullanımının *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* ve *Bifidobacterium lactis*'in büyümesini ve canlılığını önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir (Shoaib et al., 2016).

2.4 Polidekstroz

Polidekstroz ortalama polimerizasyon değeri 12-120 arasında değişen, rastgele bağlanmış bir glikoz polimeridir. Tatlı olmayan, nötr bir tada sahiptir. Suda yüksek oranda çözünür olduğu için pişmiş ürünler, şekerlemeler, süt ürünleri ve fonksiyonel içecekler gibi ürünlerde kullanılan düşük kalorili kıvam artırıcı olarak kullanılan bir maddedir. 60'dan fazla ülkede gıdalarda kullanım için onaylanmış, 20'den fazla ülkede ise diyet lifi olarak tanımlanmıştır (Probert and Flood, 2004; Craig, 1999). Polidekstrozun günlük alım miktarı 4-12 gr olarak belirlenmiştir (Zhong et al., 2000).

Yapılan *in vitro* çalışmalar polidekstrozun prebiyotik potansiyele sahip olduğunu kanıtlamıştır (Holscher et al., 2015). Polidekstozun, kolonik mikrobial bileşimini ve etkinliğini yararlı bir şekilde değiştirdiği gösterilmiştir. Daha düşük

moleküler ağırlığa sahip diğer prebiyotiklerden farklı olarak, polidekstroz yavaş fermente edilir ve kolondaki mikrobiyotaya yönelik bir karbon kaynağı olarak kalır. Polidekstrozun sürekli ve yavaş fermantasyonu, *in vitro*, *in vivo* çalışmalar ve diyet uygulamalarındaki denemelerde de gösterilmiştir (Roÿotiö et al., 2014). Kolondaki bakteriler fermentasyon sonrasında asetat, propiyonat, bütirat ve az miktarda gazın sürekli bir şekilde üretilmesine neden olur (Roberfroid et al., 2010). Polidekstrozun yavaş ve sürekli fermentasyonu diyet çalışmalarında olumlu bir durum olarak açıklanmaktadır (Boler et al., 2011). Bu durum aynı zamanda, polidekstrozun kalın bağırsağın distal kısmında bulunmasını sağlar; böylece sakkarolitik fermantasyon için substratlar tükendiğinde proteolitik fermantasyonu yavaşlatılabilmektedir (Lahtinen et al., 2010; Mäkeläinen et al., 2010).

2.5 Hi-maize Dirençli Nişasta

Dirençli nişasta, ince bağırsakta sindirime dirençli nişasta olarak tanımlanmaktadır. Dirençli nişasta, tüketildikten sonra 120 dakika içinde ince bağırsakta D-glikoza hidroliz edilmeyip kolonda fermente edilen nişastanın bir çeşididir. Dirençli nişastanın tokluk sağlanması açısından mükemmel bir lif kaynağı, insülin direncine etkisi ve bağırsak hareketinin düzenliliğini arttıran etkisi olduğu da yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Zaman and Sarbini, 2016).

Doğal olarak oluşan dirençli nişasta, tahıllar, sebzeler, baklagiller, tohumlar ve yumrular dahil olmak üzere bazı gıdalarda bulunur.

Dirençli nişastalar dört sınıfa ayrılmıştır:

1. Fiziksel olarak erişilemeyen nişastalar, (baklagiller ve tohumlar)

2. Sindirim enzimleri tarafından hidrolize edilmeyi önleyen, özel olarak yapılandırılmış granüller içerenler, (patates ve mısır)

3. Gıda işlenmesi ve imalatı sırasında jelatinleştirme ve retrogradasyon işlemi yoluyla üretilen nişastalar, (genellikle ekmek gibi pişmiş ve soğutulmuş gıdalarda bulunur)

4. Kimyasallarla modifiye edilmiş olan nişastalar,

Dirençli nişastanın farklı çeşitleri mevcut olup bunlar çoğunlukla fiziksel ve kimyasal özelliklere göre tanımlanmaktadır. Nişasta içeren parçaların boyutu da dahil olmak üzere nişastanın sindirime dirençli olmasına neden olan bir takım faktörler vardır. Bunlar nişasta granüllerinin yapısı, işlemden geçme ve kimyasal modifikasyondur. Dirençli nişasta olarak tanımlanan Hi-maize'in prebiyotik olarak kabul edilebilmesi için aşağıdaki kriterleri sağlaması gerekmektedir (Roberfroid et al., 2010).

1) Gastrointestinal sindirim koşulları ve gastrik asitliğe dirençli olmak

2) Fermente edilebilmek ve bağırsak mikrobiyotası tarafından kullanılabilmek

3) Bağırsak mikrobiyotasını uyarmak ve /veya aktivitesini artırmak

2.6 Fermente Süt Ürünlerinin *İn Vitro* Gastrointestinal Sindirim Modellerinde Değerlendirilmesi İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Faye et al. (2012) fermente sütlerde bulunan bazı laktik asit bakterilerinin canlılıklarını insan mide-bağırsak sisteminin taklit edildiği *in vitro* sindirim modelinde araştırmışlardır. Araştırıcılar çalışmaları kapsamındaki sindirim modelinde Lactobacillus suşlarının Laktokoklara nazaran aside karşı çok daha fazla toleranslı olduklarını tespit etmişlerdir. Çalışma sonunda ayrıca probiyotik bakterilerinin gastrointestinal bölgedeki canlılığının ortaya konmasında uygulanan mide-bağırsak sistemi simülasyon modelinin klinik denemeler için ön araştırma niteliği taşıyabileceği vurgulanmıştır.

Ranadheera et al. (2012) yaptıkları çalışmada ise *Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12'nin *in vitro* gastrointestinal koşullarda canlılığına gıda çeşidinin etkisi araştırılmıştır. Çalışmada söz konusu bakteriler ve *Propionibacterium jensenii* 702 kullanılarak ve keçi sütünden üretilen dondurma, sade yoğurt ve meyveli yoğurt materyal olarak kullanılmıştır.

Çalışmada, probiyotik bakterilerin gerek yüksek asidik koşullara (pH 2.0) gerekse safraya karşı toleranslarını *in vitro* koşullarda belirlenmesinde kullanılan gıdanın matriksinin önemli derecede etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Probiyotik bakteri canlılığının simüle edilen gastrik geçiş sırasında pH 2.0 noktasında pH 3.0 ve 4.0 koşullarına göre önemli düzeyde azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı araştırıcıların yaptıkları bir diğer çalışmada söz konusu probiyotik bakteri ve bunların kombinasyonları kullanılarak fermente süt üretilmiş ve probiyotiklerin *in vitro* gastrointestinal sistemde sindirim koşullarına karşı toleransları belirlenmiştir. Her üç bakterinin tek başlarına ve kombine kullanımları durumunda gerek *in vitro* mide (pH 2.0) ve gerekse bağırsak (% 0.3 safra, pH 8.0) ortamında canlılıklarının önemli düzeyde azalma ($p<0.05$) gösterdiği saptanmıştır (Ranadheera et al., 2014).

Bedani et al. (2013) inulin ve / veya okara (soya fasulyesinin çözünemez bölümlerinden oluşan pulp) unu ilaveli soya sütünden ürettikleri ABT fermente süt ürünlerinde *Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Bifidobacterium animalis* Bb-12 canlılığını 28 günlük depolama boyunca *in vitro* simüle gastrointestinal koşularda araştırmışlardır. Probiyotik bakteri canlılığının depolama boyunca 8-9 log kob/g arasında değiştiği çalışmada *B.lactis*'nin *L.acidophilus*'a göre gastrointestinal koşullara daha dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada, *Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Bifidobacterium animalis* Bb-12 ilave edilen soya yoğurdunda simüle edilen *in vitro* gastrointestinal koşullarda probiyotik bakteri canlılığı ve mango ile guava ilavesinin canlılığa etkisi incelenmiştir. Çalışmada 28 günlük depolama boyunca probiyotik bakteri sayısının 8-9 log kob/g arasında kaldığı ve meyve pulpu ilavesinin probiyotik bakteri canlılığını etkilemediği saptanmıştır. Buna karşın meyve pulpu ilavesinin gastrointestinal sindirim koşullarında probiyotiklerin sayısını azalttığı belirlemiştir (Bedani et al., 2014).

Casarotti et al. (2014b) yapmış olduğu çalışmada, fermente süt ürünlerindeki probiyotiklerin aktivitesini artırmak için kinoa unu ilave edilmiş ve 1., 14. ve 28. depo günlerinde analize tabi tutulmuştur. Kinoa ununun depolama sırasında asitlik üzerinde etkili olduğu, bunun yanında *L.acidophilus* La-5

sayısında gastrointestinal sistemin simüle koşulları boyunca fazlar arası geçiş sırasında önemli derecede azalma ($p<0.05$) gösterdiği gözlemlenmiştir. Kinoa ununun ürünler arası probiyotik suşların direnci üzerindeki koruyucu etkisi mikrobiyolojik açıdan önemli bulunmayıp ($p>0.05$) *in vitro* gastrointestinal sindirim sonunda kontrol ürünü ile % 1, % 2 ve % 3 kinoa unu ilaveli ürünlerde probiyotik sayımlar arasındaki fark 1 log kob / ml'den az bulunmuştur. Depolama sonunda tüm ürünlerde *L.acidophilus* miktarında 1. depo gününde 3 logaritmik, 14. gün kontrol ürününde 4 logaritmik, kinoa ilaveli ürünlerde 3 logaritmik bir azalış, 28. gün tüm ürünlerde 4 log düzeyinde azalma olduğu görülmüştür. Ayrıca *L.acidophilus*'un gastrik fazda enterik faza oranla daha fazla etkilendiği belirlenmiştir. Kinoa unu ilavesi, gastrointestinal sistemde gastrik ve enterik fazlarda probiyotiklerin hayatta kalması için koruma sağladığı da görülmüştür.

Fermente süt ürünü üretiminde farklı probiyotik kültür kombinasyonlarının kullanıldığı ve depolama boyunca *in vitro* gastrointestinal koşullarındaki bakteri canlılığının araştırıldığı bir diğer çalışmada kültür olarak *Lactobacillus acidophilus, Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* ve bu bakterilerin çeşitli kombinasyonları kullanılmıştır. *S. thermophilus* ve *B.animalis* subsp. *lactis* sayıları tüm kombinasyon uygulamalarında 28 günlük depolama sonunda stabil kalırken, sadece *L. acidophilus* ile fermente edilen sütte canlı *L.acidophilus* sayısı zamanla azalma göstermiştir. Probiyotik bakterilerin gastrointestinal koşullara olan toleransları incelendiğinde ise Bifidobakterilerin Laktobasil suşlarına göre asit ve safraya karşı daha toleranslı oldukları tespit edilmiştir (Casarotti and Monterio, 2014).

Casarotti and Penna (2015a) yaptıkları çalışmada % 1 oranında ilave edilen elma, muz ve üzüm tozunun ABT-fermente süt ürünün özelliklerine etkisi araştırmıştır. Araştırıcılar fermente süte meyve tozlarının ilavesinin 28 günlük depolama süresince probiyotik canlılığını etkilemediğini tespit etmişlerdir. Buna karşın, meyve tozlarıyla zenginleştirmenin özellikle 14. ve 28. günlerde *Lactobacillus acidophilus*'un *in vitro* gastrointestinal koşullarına toleransını iyileştirdiği belirlenmiştir. Diğer yandan sadece muz tozunun depolamanın sonunda *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* üzerinde koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Süt

Araştırmada hammadde olarak kullanılan çiğ inek sütü Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü Pilot Süt İşletmesi'nden temin edilmiştir.

3.1.2 Starter kültür

Üretimde Christian Hansen (Hørshom, Denmark) firmasına ait ve *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12'den oluşan DVS (Direct Vat Set) ABT-10 kültürü kullanılmıştır.

3.1.3 Prebiyotikler

Üretimde kullanılan prebiyotik özellikteki inulin (Fibruline Instant, Cosucra, Warcoing, Belgium), polidekstroz (Litesse IP Power, Danisco, USA) ve dirençli nişasta (Hi-maize, Ingredion, Hamburg, Germany) farklı firmalardan temin edilmiştir.

3.1.4 Süttozu

Üretimde kullanılan yağsız süt tozu Pınar Süt Mamulleri Sanayii A.Ş.'den temin edilmiştir.

3.2 Yöntem

3.2.1 Fermente süt kültürünün hazırlanması

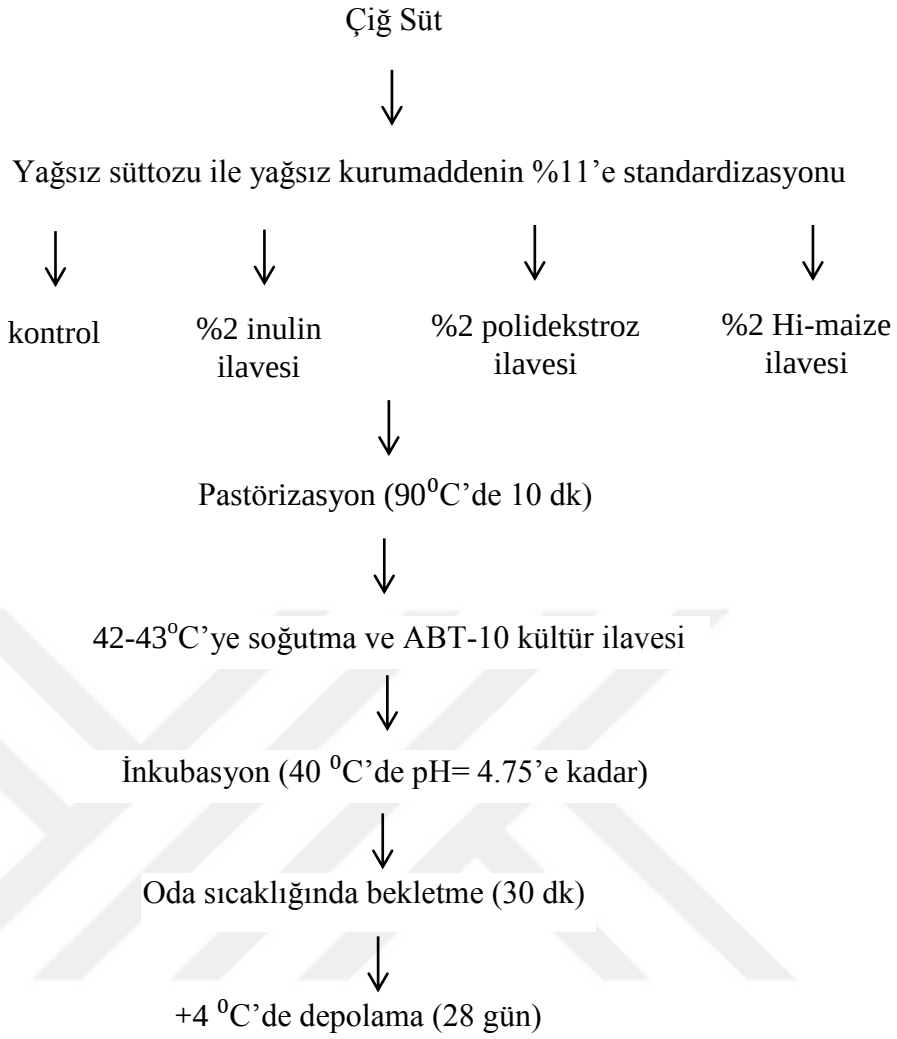
Kültür sütü % 13 yağsız kuru maddeli olacak şekilde yağsız süt tozundan hazırlanmış ve 113°C'de 15 dk otoklavda sterilize edilmiştir. Sıcaklığı 40-41°C'ye getirilen 1 Lt kültür sütüne ABT-10 kültürü 200U (*Streptococcus*

thermophilus, *Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12) ilave edilmiştir.

3.2.2 Fermente süt üretimi

Fermente süt üretimi Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir. Yağsız kurumaddesi yağsız süttozu ile % 11'e ayarlanmış süt 4 kısma ayrılmıştır. Ayrılan her kısım süte % 2 oranında inulin, polidekstroz ve Hi-maize ilave edilmiştir. Herhangi bir prebiyotik ilavesi yapılmayan süt ise kontrol grubunu oluşturmuştur. 90°C'de 10 dk pastörize edilen sütler 42-43°C'ye soğutulduktan sonra firmanın önerdiği oranda (1 mL/L) DVS ABT kültürü ilave edilmiştir. Ürünler steril kaplara dolum yapıldıktan sonra 40°C'de pH 4.75'e gelinceye kadar inkübasyonda bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası fermente sütler 30 dk oda sıcaklığında dinlendirildikten sonra ürünler buzdolabı koşullarında 28 gün depolanmıştır.

Araştırmada üretilen fermente sütlerin üretim akış şeması Şekil 3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Fermente süt üretim akış şeması.

Şekil 3.1'de görüldüğü şekilde üretilen fermente sütlerde bileşim analizleri depolamanın ilk günü, pH ve titrasyon asitliğinin belirlenmesi ile duyusal analiz depolamanın 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerinde, bakteri canlılığının ve probiyotik bakterilerin *in vitro* gastrointestinal sindirim koşulları altındaki canlılıklarının belirlenmesi depolamanın 1., 14. ve 28. günlerinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.3 Analizler

3.2.3.1 Çiğ sütte yapılan analizler

Kurumadde

Araştırmamızda kullandığımız çiğ inek sütü sabit tartıma gelinceye kadar kurutulması ile gravimetrik olarak belirlenmiştir (AOAC, 1997).

Yağ oranı

Yağ miktarı Gerber yöntemine göre yapılmıştır (Renner, 1993).

Protein

Çiğ sütün toplam protein miktarı Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiştir (AOAC, 1997).

pH tayini

pH değeri E.Ü.Z.F Süt Teknolojisi Bölümü'nde bulunan Hanna Instruments (model pH 211, Woonsocket, RI) marka pH metre ile saptanmıştır.

3.2.3.2 Fermente süt örneklerinde yapılan kimyasal analizler

Kurumadde

Fermente süt ürünleri sabit tartıma gelinceye kadar kurutulması ile gravimetrik olarak belirlenmiştir (AOAC, 1997).

Yağ

Örneklerin yağ miktarı Gerber yöntemine göre yapılmıştır (Renner, 1993).

Protein

Örneklerin toplam protein miktarı Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiştir (AOAC, 1997).

pH

pH değeri E.Ü.Z.F Süt Teknolojisi Bölümü'nde bulunan Hanna Instruments (model pH 211, Woonsocket, RI) marka pHmetre ile saptanmıştır.

Titrasyon Asitliği

Örneklerin titrasyon asitliği TSE 1330 Yoğurt Standardına göre belirlenmiştir (Anonim, 1989).

3.2.3.3 Fermente süt örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizler

Dilüsyonların hazırlanması

Ringer çözeltisi kullanılarak (seyreltme oranı= 1:9) uygun oranlarda dilüsyonlar hazırlanmıştır. Mikrobiyolojik sayımlar için ürünlerden 1., 14. ve 28. depo günlerinde örnek alınarak ekim yapılmıştır.

Kültür bakterilerinin sayımı

Kültür bakterilerinden *Streptococcus thermophilus* sayımı M_{17} agarda (Merck, Darmstadt, Germany) 37°C'de 48 saatlik inkübasyon sonrası aerobik koşullarda dökme plak yöntemi uygulanarak gerçekleştirilmiştir (Akalın ve Ünal, 2010). *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayımı MRS-NNLP (nalidixic acid-neomycin sulphate-lithium chloride-paramomycin sulphate) agarda 37°C'de 72 saatlik inkübasyon sonrası anaerobik koşullarda gerçekleştirilmiştir (Mariya et al., 2006; Akalın ve Ünal, 2010). *Lactobacillus acidophilus* sayımı MRS- Sorbitol agarda 37°C'de 48 saatlik inkübasyon sonrası anaerobik koşullarda gerçekleştirilmiştir (Akalın ve Ünal, 2010; Bedani et al., 2013). Anaerobik ortam

koşulları anaerobik jar ve Mikrobiologie Anaerocult A (Merck, Darmstadt, Germany) kullanılarak sağlanmıştır.

3.2.3.4 Probiyotik bakterilerin (Simüle) *İn Vitro* Gastrointestinal sindirim koşullarında canlılıklarının belirlenmesi

Fermente sütlerde probiyotiklerin *in vitro* gastrik ve enterik koşullarda canlılıkları depolamanın 1., 14., ve 28. günlerinde Bedani et al. (2014) ile Casarotti and Penna (2015)'nın uygulamış oldukları yöntemde değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. % 0.5 NaCl çözeltisi içerisinde seyretilen fermente süt örneğinden *in vitro* gastrointestinal sindirim koşulları dikkate alınarak her bir steril kaba 10 mL olacak şekilde 3 steril kaba aktarım yapılmıştır. Gastrik faz sindirim koşullarını sağlamak için, pH değeri 2.2-2.6'ya 0.5 M HCI ile ayarlanmıştır. Daha sonra pepsin (Sigma-Aldrich) ve lipaz (Aldrich Company, St. Lovis, MO, USA) çözeltileri 3 örneğe sırasıyla 3 g/L ve 0.9 mg/L konsantrasyona ulaşılacak şekilde ilave edilmiştir.

Steril kaplar daha sonra 37°'C'de 150 rpm hızla (Mikrotest, MCS Serisi, Ankara, Türkiye) 2 saat inkübe edilmiştir. Enterik faz I için ise örneklerin pH değeri safra (Sigma- Aldrich) ve pankreatin (Sigma- Aldrich) içeren alkali çözelti ile 4.3-5.2'ye ayarlanmıştır. Son karışımda safra ve pankreatin konsatrasyonları sırasıyla 10 g/L ve 1 g/L olacak şekilde ayarlanmıştır. Tekrar 37°C'de 2 saat inkübe edilmiştir. Son olarak enterik faz II için aynı alkali çözelti kullanılarak örneklerin pH değeri 7.0-7.3'e ayarlanmıştır. Daha sonra örnekler tekrar 37°C'de 2 saat inkübe edilmiş ve böylece yöntemin 6 saati tamamlanmıştır. Gastrik ve enterik fazları tamamlanan örneklerde uygun ortam koşullarında ekim yapılarak probiyotik canlılık oranları belirlenmiştir. Yöntemde kullanılan çalkalamalı su banyosunun görünüşü Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Çalkalamalı su banyosu cihazının görünüşü.

3.2.3.5 Duyusal analiz

Fermente süt ürünlerinde duyusal değerlendirme 1-5 aralığında puan sisteminde oluşan hedonik skala yöntemine göre depo boyunca yapılmıştır (Martin-Diana et al., 2003). Puanlama testi E.Ü.Z.F. Süt Teknolojisi öğretim elemanlarından oluşan 7 kişilik eğitilmiş panelist grubu ile gerçekleştirilmiştir. Ürünler ‘‘tat, görünüş, aroma, tekstür ve toplam kabul edilebilirlik’’ açısından değerlendirilip fermente süt ürünleri panelistlere üç haneli kodlanmış olarak +4°C’de sunulmuştur. Çizelge 3.1’de çalışmada kullanılan duyusal analiz formu örneği verilmiştir.

Çizelge 3.1. Fermente süt duyusal analiz formu

PANELİST ADI : **TARİH**:

KRİTERLER	**ÖRNEKLER**			
	251	**997**	**453**	**115**
TAT (1-5)				
GÖRÜNÜŞ (1-5)				
AROMA (1-5)				
TEKSTÜR (1-5)				
TOPLAM KABUL EDİLEBİLİRLİK (1-5)				

3.2.3.6 İstatistik analiz

3 tekerrür halinde gerçekleştirilen araştırmada analizler iki parallelli olarak yürütülmüştür. Elde edilen verilerinin istatistiksel analizi SPSS paket programı (SPSS version 11.05., SPSS Inc., Chicago, IL) kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla varyans analizi (ANOVA) uygulanmış olup Duncan çoklu karşılaştırma testine göre fermente süt örnekleri arasındaki farklılıkların önemliliği ($p<0.05$) ortaya konarak örnekler gruplandırılmıştır. Probiyotik bakterilerin simüle *in vitro* gastrointestinal sindirim koşullarındaki canlılıklarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde ise, aynı depolama gününde ürünler arası ve fazlar arası farklılıklar belirlenmiştir. Bunun yanında, *in vitro* gastrointestinal modeli oluşturan her bir fazın depo günleri arasındaki farklılıklar da tespit edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Fermente Süt Üretiminde Kullanılan Çiğ Sütün Bileşimi

Üretimde kullanılan çiğ sütün ortalama toplam kurumadde değeri % 11.45, yağ oranı % 3.1 ve yağsız kurumadde oranı % 8.35, protein oranı % 2.92, % laktik asit değeri % 0.12 ve pH değeri ise 6.60 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Fermente süt üretiminde kullanılan sütün özellikleri (n=3)

Özellik	**Ortalama değer**
Toplam kurumadde (%)	11.45±0.03
Yağ (%)	3.10±0.00
Laktik asit (%)	0.12±0.00
pH	6.60±0.00
Protein (%)	2.92±0.32

Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği'nde (Tebliğ No: 2000/6) ve 22.08.2006 tarih ve 26267 nolu Türk Gıda Kodeksi- Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği'nde Değişiklik Yapılması Hakkındaki Tebliğ'e göre; çiğ inek sütünün protein oranı en az % 2.8, yağ oranı % 3.5, yağsız kuru madde oranının en az % 8.5, yoğunluğunun en az 1.028 g/mL ve % laktik asidin % 0.14-0.20 arasında olması gerektiği belirtilmiştir (Anonim, 2000a; 2000b).

Tezimizde elde ettiğimiz verileri tebliğ ile karşılaştırdığımızda üretimde kullanılan sütün yağ, yağsız kurumadde ve laktik asit oranının biraz düşük olduğu görülmüştür. Bu durumun mevsimsel farklılıklardan, sütün elde edildiği hayvanın beslenmesi, yaşı ve laktasyon dönemi gibi faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Buna karşın kullanılan sütün protein miktarının tebliğe uygun olduğu görülmektedir.

4.2 Fermente Süt Ürünlerinin Kimyasal Özellikleri

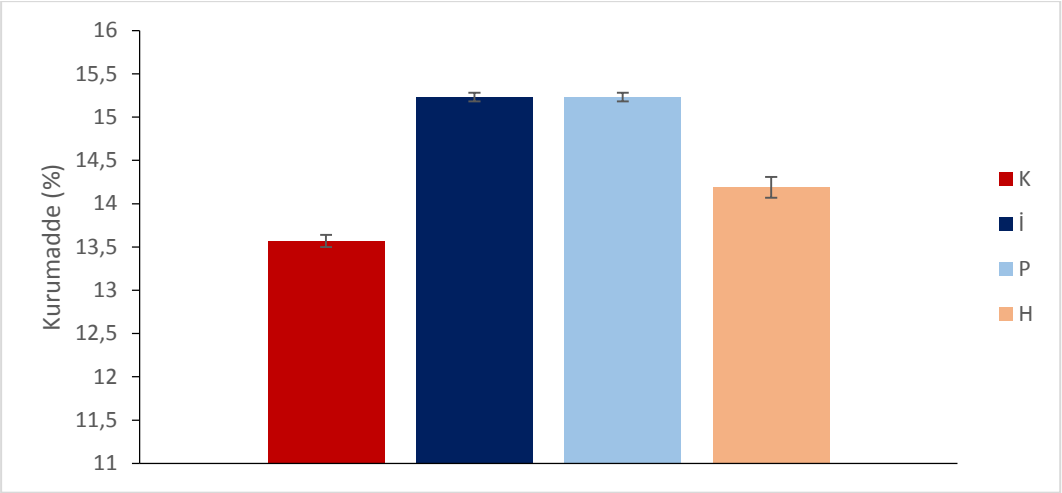
4.2.1 Kurumadde

Fermente süt ürünlerinde toplam kurumadde oranı ürün kalitesini etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Fermente süt ürünleri için, depolamanın birinci günü yapılan kurumadde analiz sonuçları Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1'de verilmiştir. Çizelge 4.2.'den de anlaşılacağı gibi en düşük kurumadde % 13.57 değeri ile kontrol örneğinde, en yüksek kurumadde oranları ise % 15.23 ile inulin ve polidekstroz ilaveli örneklerde bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda inulin ve polidekstroz ilaveli ürünler arasında oluşan farkın önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$). Hi-maize dirençli nişasta ilave edilen fermente süt örneğinin ise inulin ve polidekstroz ilaveli örneklere göre önemli derecede düşük oranda kurumadde içerdiği görülmektedir. Bu durumun inulin (% 95.8), polidekstroz (% 98.6) ve dirençli nişastanın (% 88.8) farklı oranlarda toplam kurumadde içermelerinden kaynaklandığı açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.2. Fermente süt ürünlerindeki kurumadde oranları (n=3)

Ürün	Kurumadde (%)
K	13.57 ± 0.07^{C}
İ	15.23 ± 0.05^{A}
P	15.23 ± 0.05^{A}
H	14.19 ± 0.12^{B}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B,C} : Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$)



Şekil 4.1. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama kurumadde miktarları.

Araştırmada kullanılan sütün yağsız kurumaddesinin % 11'e ayarlandığı ve üretimde % 3.1 yağlı süt kullanıldığı dikkate alındığında, fermente süt örneklerinin kurumadde miktarlarının beklenen değerlerin biraz altında olduğu söylenebilir.

4.2.2 Yağ

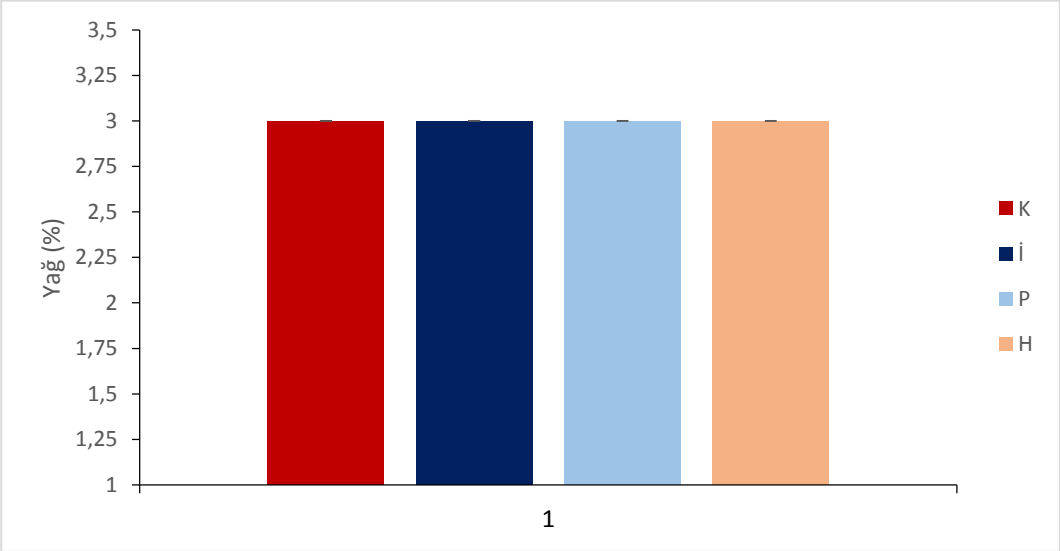
Süt yağı, ekonomik ve teknolojik önemi nedeniyle sütün en değerli maddesi olarak kabul edilir. Süt ürünlerinin fiziksel özelliklerini olumlu yönde etkilemesinin yanında beslenme fizyolojisi açısından incelendiğinde ise süt yağı iyi bir enerji kaynağıdır. Buna ek olarak içerdiği orta karbon zincirli yağ asitleri ve yağda çözünen A, D, E ve K vitaminleri nedeniyle büyük bir öneme sahiptir (Metin, 2012).

Fermente süt ürünlerinde depolamanın birinci günü yapılan yağ analizi sonuçları Çizelge 4.3. ve Şekil 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Fermente süt ürünlerindeki yağ miktarı (n=3)

Ürün	Yağ (%)
K	3.00±0.00^{A}
İ	3.00±0.00^{A}
P	3.00±0.00^{A}
H	3.00±0.00^{A}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği



Şekil 4.2. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama yağ miktarları.

Fermente süt ürünlerinin içerdikleri yağ miktarları arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

4.2.3 Protein

Süt proteinleri; organizmanın gelişmesi, büyümesi ve kendi kendine yenilemesi için gerekli en önemli yapı taşlarıdır. Süt proteinlerinin yapısında yaşam için vazgeçilmez ve mutlaka dışardan alınması gerekli, yani vücut tarafından sentezlenmeyen tüm esansiyel aminoasitler yer alır (Metin, 2012).

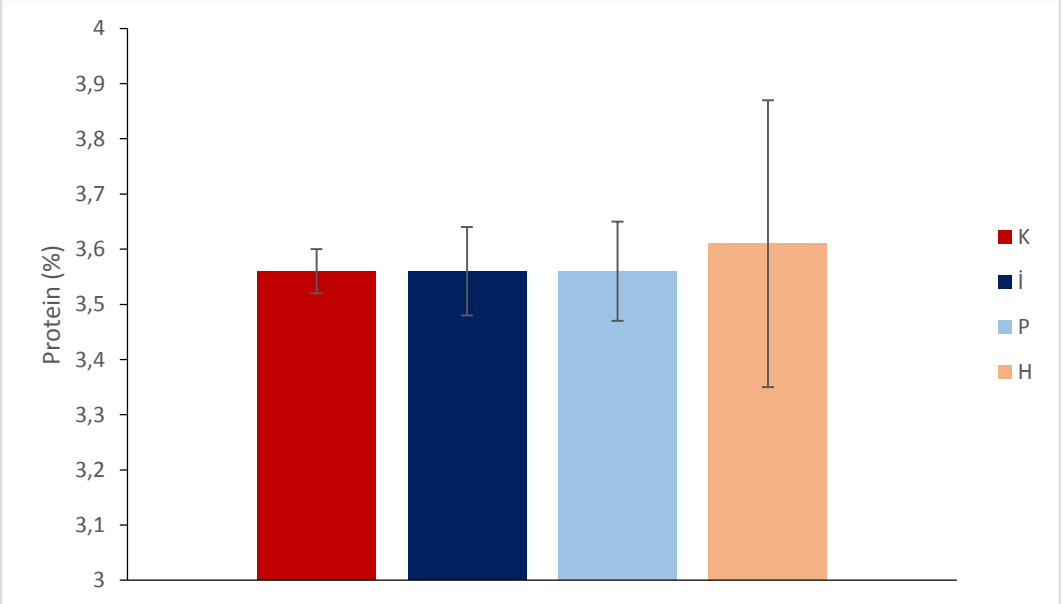
16.02.2009 tarih ve 27143 Sayılı Fermente Sütler Tebliği'nde (Tebliğ No:2009/25) fermente süt ürününün protein değerinin en az % 2.7 değerinde olması gerektiği belirtilmiştir. Araştırmamızda üretilen tüm fermente süt ürünleri çeşitlerinin protein değeri açısından tebliğe uygun olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.4. Fermente süt ürünlerindeki protein miktarı (n=3)

Ürün	Protein (%)
K	3.56 ± 0.04^{A}
İ	3.56 ± 0.08^{A}
P	3.56 ± 0.09^{A}
H	3.61 ± 0.26^{A}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği

Fermente süt ürünlerine ait birinci gün protein analiz sonuçları Çizelge 4.4'de ve Şekil 4.3.'de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucu ürünler arasındaki farkın önemsiz olduğu görülmüştür ($p>0.05$). Çalışmada kullanılan prebiyotik çeşitleri protein bazlı olmadığından dolayı böyle bir sonucun elde edilmesi beklenen bir durumdur.



Şekil 4.3. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama protein miktarları.

4.2.4 pH

pH değeri, aktif asitliğin bir ölçüsü olmakla beraber disosiye olmuş hidrojen iyonları konsantrasyonu hakkında bilgi vermektedir (Oysun, 1991).

Yapılan Duncan analizi sonucunda fermente süt ürünü çeşidi ve depolama süresinin pH değerleri üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Çalışmamızda üretilen fermente süt ürünlerinde pH değerleri Çizelge 4.5 ve Şekil 4.4'de gösterilmiş olup değerler 4.37- 4.73 arasında değişmiştir. Depolama boyunca kontrol örneği ile inulin ve Hi-maize ilaveli fermente süt örneklerinde pH değerinde dalgalanmalar olduğu, polidekstroz ilaveli fermente süt örneğinde ise özellikle 14. günden itibaren pH değerinde önemli derecede azalma tespit edilmiştir.

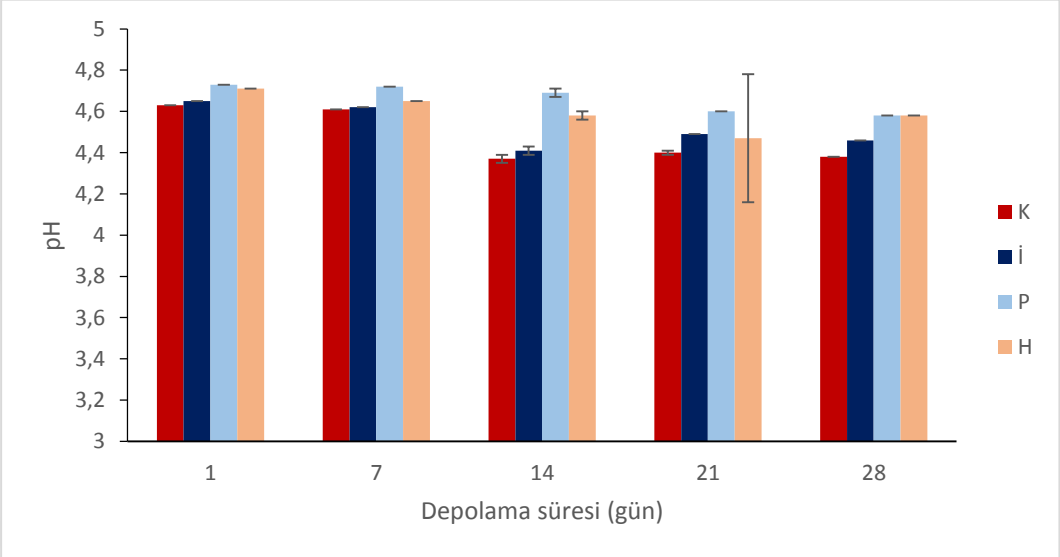
Çizelge 4.5. Fermente süt ürünlerindeki depolama sırasındaki pH değerleri (n=3)

ÜRÜN	DEPOLAMA GÜNLERİ				
	1	7	14	21	28
K	4.63 ± 0.00^{Da}	4.61 ± 0.00^{Da}	4.37 ± 0.02^{Cc}	4.40 ± 0.01^{Ab}	4.38 ± 0.00^{Cc}
İ	4.65 ± 0.00^{Ca}	4.62 ± 0.00^{Cb}	4.41 ± 0.02^{Ce}	4.49 ± 0.00^{Ac}	4.46 ± 0.00^{Bd}
P	4.73 ± 0.00^{Aa}	4.72 ± 0.00^{Aa}	4.69 ± 0.00^{Ab}	4.65 ± 0.00^{Ac}	4.58 ± 0.00^{Ad}
H	4.71 ± 0.00^{Ba}	4.65 ± 0.53^{Bab}	4.58 ± 0.02^{Bab}	4.47 ± 0.31^{Ab}	4.58 ± 0.00^{Aab}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği, P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B,C,D}: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b,c,d,e}: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Elde ettiğimiz sonuçlara paralel olarak yapılan bir çalışmada, 28 günlük depolama boyunca kontrol fermente süt örneğinin prebiyotik eklenen diğer ürünlerden daha düşük pH değerine sahip olduğu tespit edilmiş ve bu durum fermente sütlere ilave edilen prebiyotiklerin tamponlama kapasitesine bağlanmıştır (Helland et al., 2004).

Bedani et al. (2013) yaptıkları çalışmada, *L.acidophilus* La-5 ve *B.animalis* Bb-12 içeren kontrol probiyotik fermente soya ürününün pH değerlerinin 28 günlük depolama boyunca % 3 inülin içeren fermente süt örneğine ait değerlere nazaran daha düşük olduğunu saptamışlardır. Buna karşın yapılan diğer bir çalışmada ise sinbiyotik kontrol fermente süt içeceğinin, depolama sonunda % 1 ve % 3 oranında Hi-maize dirençli nişasta içeren fermente süt örneğinden daha yüksek pH değerine sahip olduğu görülmüştür (Nobakhti et al., 2009).



Şekil 4.4. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama pH değerleri değişimi.

Casarotti and Penna (2015a) yapmış oldukları çalışmalarında; elma, muz ve üzüm tozu ilaveli fermente sütlerde 28 günlük depolama boyunca pH değerindeki değişimleri izlemişlerdir. pH değerlerindeki azalma kontrol ürününde diğer ürünlere göre daha fazla olmuştur. Meyve tozu ilaveli fermente sütlerde 1. ve 14. depo günlerinde üzüm tozu ilaveli fermente süt dışında, diğer ürünlerin pH değeri kontrol ürününe göre daha yüksek bulunmuştur. Kontrol ve elma tozu ilaveli ürünlerde değerler, 14. depo gününde önemli derecede azalmış, muz ve üzüm tozu ilave edilen fermente sütlerde ise depo boyunca önemli derecede düşüş göstermiştir.

Srisuvor et al. (2013) yaptıkları çalışmada elde ettiğimiz sonuçların aksine, % 2 inulin ve % 2 polidekstroz ilave edilmiş düşük yağlı set yoğurdun pH değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark görmemişlerdir ($p>0.05$).

Benzer şekilde % 4 polidekstroz ilaveli, *S.thermophilus* ve *L.acidophilus* içeren yağsız fermente sütün üretimden 24 saat sonra belirlenen pH değeri önemli ölçüde değişmemiştir ($p>0.05$) (Oliveria et al., 2009). Heydari et al. (2011), ABY tipi probiyotik yoğurdun (yoğurt bakterileri, *L.acidophilus* La-5 ve *B.animalis* subsp. *lactis* Bb-12) depolama süresi boyunca farklı prebiyotiklerin asitlik derecesine etkisini araştırmıştır. Söz konusu çalışmada kontrol örneği, inülin (% 1) ve Hi-maize (% 3) ilaveli örneklerin pH değerlerinin benzer olduğu belirlenmiştir ($p>0.05$). Elde edilen bu farklı sonuçlar, çalışmalarda kullanılan ürüne ve prebiyotik türüne bağlanabilir.

4.2.5 Titrasyon asitliği (% Laktik asit)

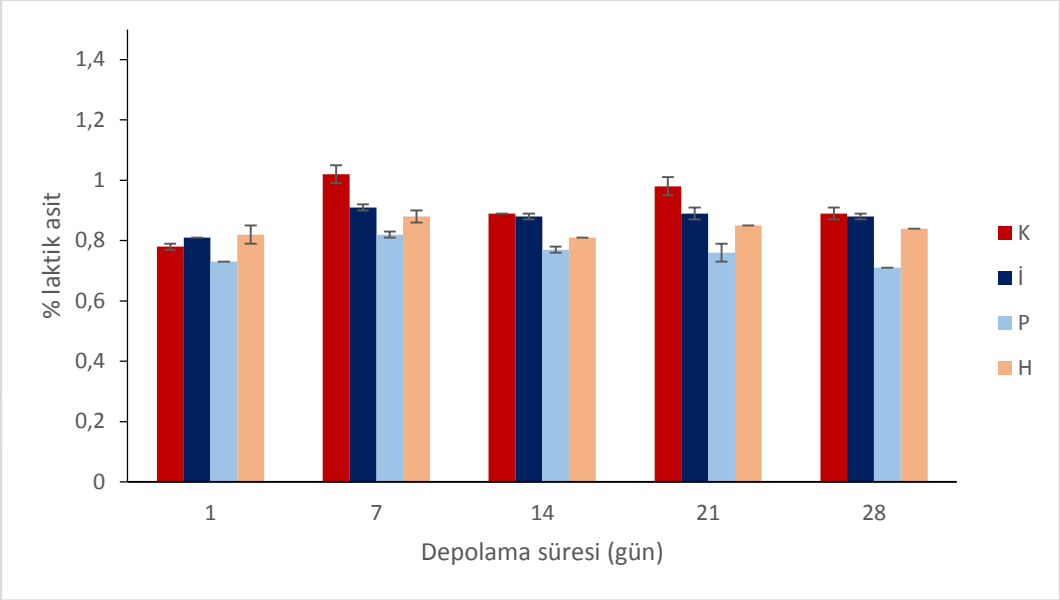
Fermente süt ürünlerinin titrasyon asitliği depolama boyunca % 0.71-1.02 log kob/g arasında değişmekte olup değerler Çizelge 4.6 ve Şekil 4.5'de verilmiştir. Yapılan Duncan analizi sonucunda ürünler arasındaki ve depo günleri arasındaki farkın önemli olduğu görülmüştür ($p<0.05$).

Çizelge 4.6. Fermente süt ürünlerindeki depolama sırasındaki laktik asit değerleri (%) (n=3)

ÜRÜN	DEPOLAMA GÜNLERİ				
	1	7	14	21	28
K	0.78 ± 0.01^{Bd}	1.02 ± 0.03^{Aa}	0.89 ± 0.00^{Ac}	0.98 ± 0.03^{Ab}	0.89 ± 0.02^{Ac}
İ	0.81 ± 0.00^{Ac}	0.91 ± 0.01^{Ba}	0.88 ± 0.01^{Ab}	0.89 ± 0.02^{Bb}	0.88 ± 0.01^{Bb}
P	0.73 ± 0.00^{Cc}	0.82 ± 0.01^{Da}	0.77 ± 0.01^{Cb}	0.76 ± 0.03^{Db}	0.71 ± 0.00^{Dc}
H	0.82 ± 0.03^{Ac}	0.88 ± 0.02^{Ca}	0.81 ± 0.00^{Bc}	0.85 ± 0.00^{Cb}	0.84 ± 0.00^{Cb}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B,C,D} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

16.02.2009 tarih ve 27143 Sayılı Fermente Sütler Tebliği'nde (Tebliğ No: 2009/25) fermente süt ürününün titrasyon asitliğinin en az % 0.3 değerinde olması gerektiği belirtilmiş olup araştırmamızda tüm fermente süt ürünleri çeşitlerinin % laktik asit değeri açısından tebliğe uygun olduğu görülmüştür.



Şekil 4.5. Probiyotik fermente süt ürünlerinin ortalama % laktik asit değerleri değişimi.

Güven vd (2005), % 1 ve % 3 oranlarında ilave edilen inulinin set tipi az yağlı yoğurtta titrasyon asitliği ve pH üzerindeki etkisini incelemişlerdir. İnulin ilavesinin titrasyon asitliği değerlerinde ürünler üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etki yaratmadığını bildirmişlerdir.

Mortazavian et al. (2011), ABY (*L.acidophilus* La-5, *B.animalis* Bb-12 ve yoğurt bakterileri) probiyotik yoğurda inulin ve Hi-maize dirençli nişasta ilavesinin titrasyon asitliği üzerindeki etkisini incelemişlerdir. En yüksek değerler inulin ilaveli üründe, en düşük değerler ise Hi-maize dirençli nişasta ilaveli üründe saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar çalışmamızdaki 1. depo günü dışındaki diğer depo günleri için belirlenen değerler ile paralellik göstermektedir. Farklı sonuç elde edilmesi kullanılan inulin miktarı ve ürün farklılığından kaynaklanabilir.

4.3 Fermente Süt Ürünlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Çalışmamız kapsamında 28 günlük depolama boyunca *S.thermophilus* miktarı, depolama süresi boyunca 8 log kob/g'un üzerinde kalırken probiyotik bakterilerin (*L.acidophilus* ve *B.animalis*) sayıları ise depolama süresince tüm ürünlerde yararlı sağlık etkilerini gösterebilmeleri için tavsiye edilen 10^6-10^8 kob/g aralığında kalmıştır (Vasiljevic and Shah, 2008).

4.3.1 *Streptococcus thermophilus* canlılığı

Probiyotik fermente süt ürünlerinde depolama süresince belirlenen *Streptococcus thermophilus* sayıları Çizelge 4.7 ve Şekil 4.6'de verilmiştir. Canlı *Streptococcus thermophilus* sayısı 28 günlük depolama boyunca 7.99-8.82 log kob/g arasında değişmiştir.

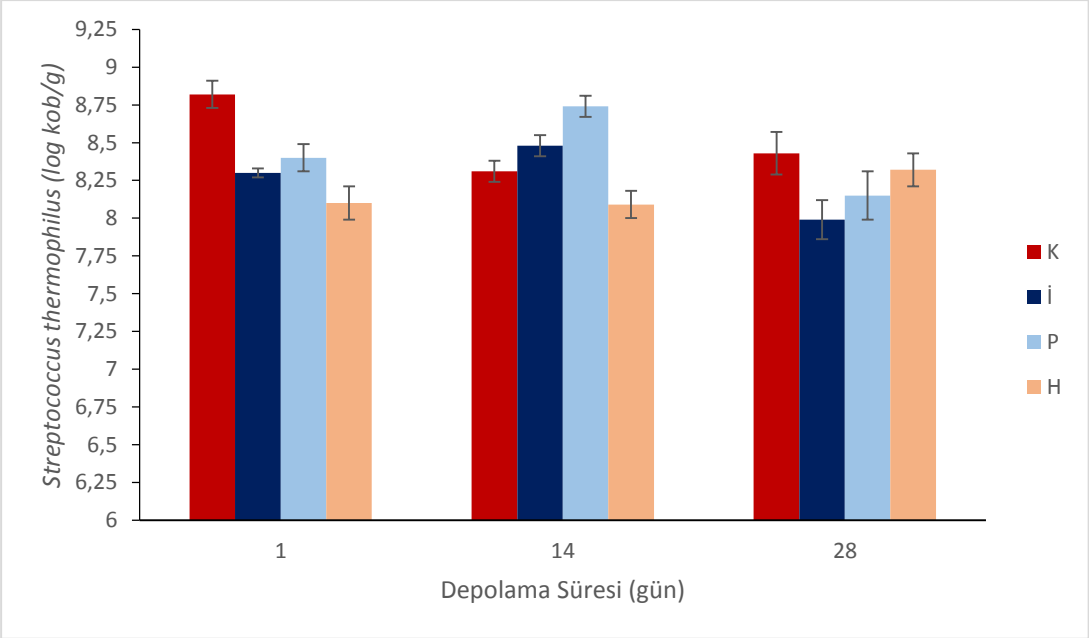
Çizelge 4.7. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama sırasındaki *Streptococcus thermophilus* sayıları (log kob/g) (n=3)

ÜRÜN	DEPOLAMA GÜNLERİ		
	1	14	28
K	8.82 ± 0.09^{Aa}	8.31 ± 0.07^{Cb}	8.43 ± 0.14^{Ab}
İ	8.30 ± 0.03^{Bb}	8.48 ± 0.07^{Ba}	7.99 ± 0.13^{Cc}
P	8.40 ± 0.09^{Bb}	8.74 ± 0.07^{Aa}	8.15 ± 0.16^{BCc}
H	8.10 ± 0.11^{Cb}	8.09 ± 0.09^{Db}	8.32 ± 0.11^{ABa}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B,C,D} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde fermente sütler için toplam spesifik mikroorganizma sayısı en az 10^7 kob/g bulunması gerektiği belirtilmiş olup çalışmamızda toplam *S.thermophilus* sayısının tebliğe uygun olduğu görülmektedir.

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda ürünler arasındaki farkın önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiş olup, depolama boyunca en yüksek *S.thermophilus* sayısı 1. ve 28. gün kontrol örneğinde, 14. gün ise polidekstroz ilaveli örnekte bulunmuştur. Hi-maize ilaveli örneğin ise *S.thermophilus* sayısının depolama sonunda diğer prebiyotik ilaveli ürünlere göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Tüm değerler dikkate alındığında depolama boyunca en düşük *S.thermophilus* miktarı depolamanın sonunda inulin ilaveli örnekte tespit edilmiştir. Tüm örneklerde depolama boyunca *S.thermophilus* canlılığında dalgalanmalar olduğu da görülmüştür.



Şekil 4.6. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Streptococcus thermophilus* sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi.

Bedani et al. (2013) yaptıkları çalışmalarında inulin ve okara unu ilaveli fermente soya ürününde 28 günlük depolama boyunca *S.thermophilus* sayılarında dalgalanmalar olduğu tespit edilmiş olup bu durum çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda *S.thermophilus* sayılarında bir miktar dalgalanma gözlemlense de genel olarak değerler, 1. güne kıyasla depolama sonunda önemli ölçüde azalmıştır ($p<0.05$). *Streptococcus thermophilus* sayımlarındaki benzer dalgalanmalar diğer bazı çalışmalarda da bildirilmiştir (Akalın ve Ünal, 2010;

Bedani et al., 2013; Casarotti and Penna, 2015a). Çalışmamızda depolama boyunca prebiyotik ilaveli fermente sütler ile kontrol fermente süt karşılaştırıldığında prebiyotik ilavesinin *S.thermophilus*'un canlılığını çok fazla geliştirmediği söylenebilir.

Bunun aksine, yapılan bir çalışmada inülin ilavesinin fermente soya ABT sütünde 28 günlük depolama boyunca *S.thermophilus*'un canlılığını geliştirdiği saptanmıştır. Söz konusu bu farkın *S.thermophilus*'un soya oligosakkaridlerini metabolize edebilme kabiliyeti ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Donkor et al., 2007).

4.3.2 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* canlılığı

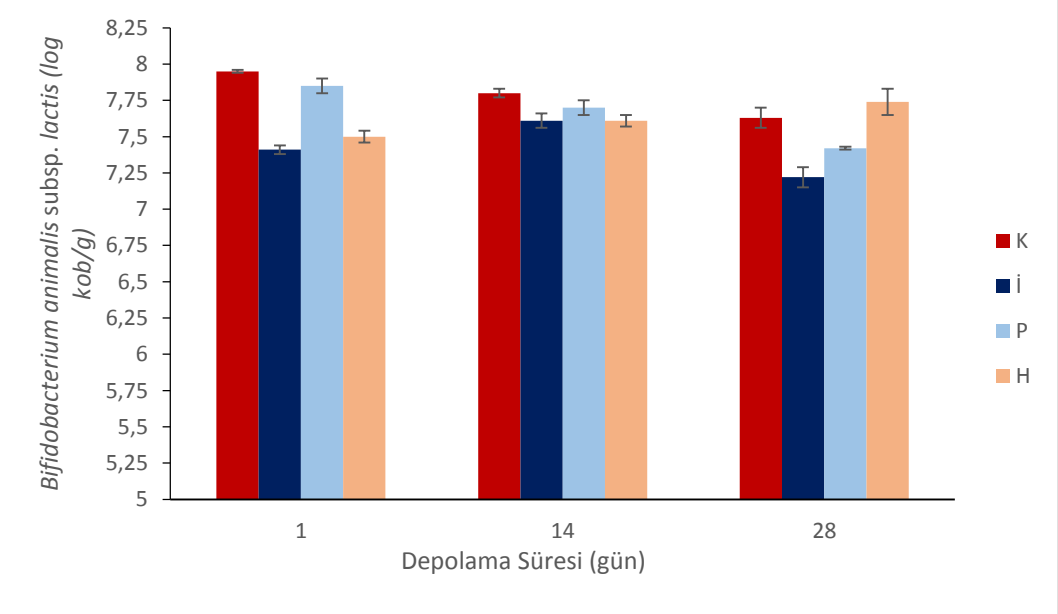
Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde fermente sütler için toplam spesifik mikroorganizma sayısı en az 10^7 kob/g olması gerektiği belirtilmiş olup ve yapılan çalışmamızda toplam *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının tebliğe uygun olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.8. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama sırasındaki *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayıları (log kob/g) (n=3)

ÜRÜN	DEPOLAMA GÜNLERİ		
	1	14	28
K	7.95 ± 0.01^{Aa}	7.80 ± 0.03^{Ab}	7.63 ± 0.07^{Bc}
İ	7.41 ± 0.03^{Db}	7.61 ± 0.05^{Ca}	7.22 ± 0.07^{Dc}
P	7.85 ± 0.05^{Ba}	7.70 ± 0.05^{Bb}	7.42 ± 0.01^{Cc}
H	7.50 ± 0.04^{Cc}	7.61 ± 0.04^{Cb}	7.74 ± 0.09^{Aa}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B,C,D} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Probiyotik fermente süt ürünlerinde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayıları Çizelge 4.8 ve Şekil 4.7'de verilmiştir. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayıları 7.22-7.95 log kob/g arasında değişmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda ürünler arasındaki farkın önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. En yüksek *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* miktarı depolamanın 1. ve 14. günlerinde kontrol örneğinde görülürken, depolamanın sonunda Hi-maize ilaveli örnek en yüksek *B.lactis* sayısına sahip olmuştur ($p<0.05$). K ve P örneklerindeki *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayısında depolama boyunca giderek azalma gözlenmiş olup, inulin ilaveli örnekte önce artış daha sonra azalma tespit edilmiştir ($p<0.05$). Dirençli nişasta ilave edilen örnekte ise depolama boyunca istatistiksel olarak sürekli bir artış görülmüştür.



Şekil 4.7. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi.

İnulin ve okara unu ilaveli fermente soya ürünü ile ilgili yapılan çalışmada *B.animalis* miktarının kontrol, inulin ve okara unu ilaveli ürünlerde 28. günlük depolama boyunca istatistiksel olarak önemli derecede değişmediği, okara unu ve inulinin birlikte ilave edildiği üründe ise 28. depolama gününde önemli derecede azaldığı belirlenmiştir (Bedani et al., 2013).

Noubakhti et al. (2009) laktuloz ve Hi-maize dirençli nişasta içeren fermente süt esaslı İran (Doogh) içeceğinde geleneksel yoğurt bakterileri varlığında *L.acidophilus* La-5 ve *B.lactis* Bb-12'nin canlılıklarını incelemişlerdir. Yapılan çalışmada en yüksek *B.lactis* Bb-12 miktarı % 3 Hi-maize dirençli nişasta ilave edilen üründe bulunurken, en düşük sayım prebiyotik içermeyen kontrol örneğinde bulunmuştur. *L.acidophilus* La-5 için ise en yüksek sayım kontrol örneğinde, en düşük sayım ise % 3 Hi-maize dirençli nişasta ilaveli örnekte tespit edilmiştir.

Çalışmamızda *B.animalis* Bb-12 sayısı, Hi-maize içeren ürün dışında tüm örneklerde depolama sonunda depolamanın 1. gününe kıyasla önemli ölçüde azalma göstermiştir. Depolamanın 1. ve 14. günlerinde en yüksek *B.animalis* Bb-12 canlılığı kontrol örneğinde saptanırken, depolamanın sonunda Hi-maize ilave edilen fermente süt ürünü en yüksek *B. animalis* Bb-12'e sahip olmuştur.

Yapılan diğer bir çalışmada 21 günlük depolama süresince % 1.5 inulin ve % 1.5 Hi-maize dirençli nişasta ilave edilen ABY tipi probiyotik yoğurt örneklerinde *B.animalis* Bb-12 sayıları açısından istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır (Heydari et al., 2011).

4.3.3 *Lactobacillus acidophilus* canlılığı

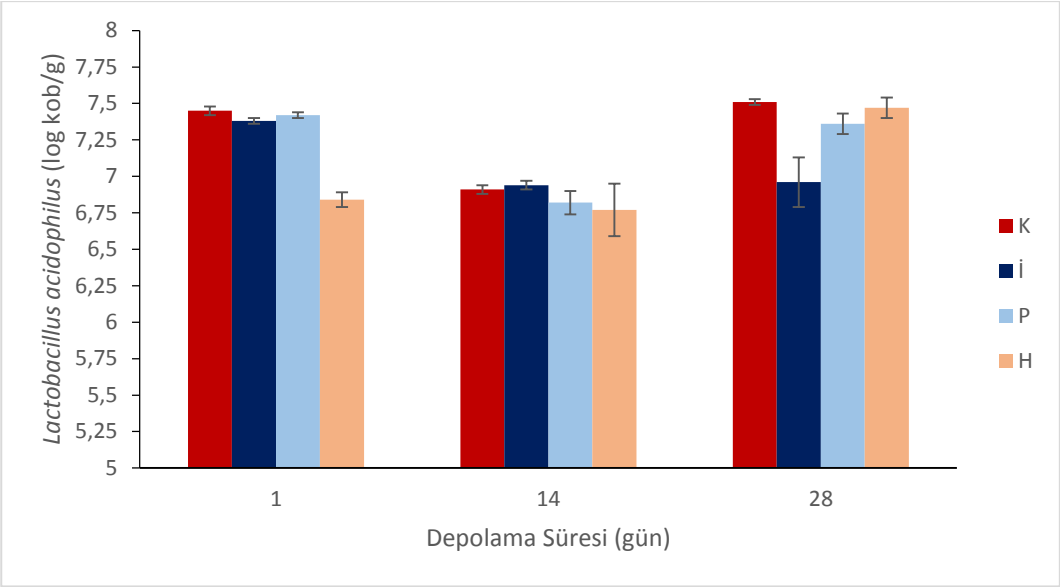
Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde fermente sütler için toplam spesifik mikroorganizma sayısı en az 10^7 kob/g olarak belirlenmiş olup ve yapılan çalışmamızda canlı *Lactobacillus acidophilus* sayısı 1. gün H örneğinde, tüm ürünlerin 14. gününde ve 28. gün İ örneğinde bulunması gereken miktarın altında tespit edilmiştir.

Çizelge 4.9. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama sırasındaki *Lactobacillus acidophilus* sayıları (log kob/g) (n=3)

ÜRÜN	DEPOLAMA GÜNLERİ		
	1	14	28
K	7.45 ± 0.03^{Ab}	6.91 ± 0.03^{Ac}	7.51 ± 0.02^{Aa}
İ	7.38 ± 0.02^{Ba}	6.94 ± 0.03^{Ab}	6.96 ± 0.17^{Cb}
P	7.42 ± 0.02^{Aa}	6.82 ± 0.08^{ABb}	7.36 ± 0.07^{Ba}
H	6.84 ± 0.05^{Cb}	6.77 ± 0.18^{Bb}	7.47 ± 0.07^{ABa}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B,C} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Probiyotik fermente süt ürünlerimizdeki *Lactobacillus acidophilus* sayıları Çizelge 4.9 ve Şekil 4.8'de verilmiş olup değerler 6.77-7.51 log kob/g arasında değişmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda ürünler arasındaki farkın önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın 1. gününde en yüksek *B.lactis* canlılığı kontrol ve polidekstroz ilaveli örneklerde saptanırken, Hi-maize dirençli nişasta ilave edilen fermente süt ürünü en düşük oranda *B.lactis* içermiştir. Buna benzer olarak Hi-maize ilaveli örnek 14. günde de en düşük *B.lactis* canlılığına sahip olmuştur. Depolamanın sonunda ise en düşük canlı *B.lactis* sayısı İ örneğinde saptanmıştır. Depolama süresince K örneğinde önce önemli derecede ($p<0.05$) azalma daha sonra artış, İ örneğinde önce azalma daha sonra 14. ve 28. günlerde ise istatistiksel olarak bir değişim görülmemiştir. H örneğinde ise 1. ve 14. günler arasında sayımda bir değişiklik olmazken ($p>0.05$), depolamanın sonunda bir miktar artış gözlenmiştir.



Şekil 4.8. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi.

Özer vd. (2005) *L.acidophilus* La-5 ve *B. animalis* Bb-12 içeren yoğurtlarda farklı oranlarda laktuloz (% 0.25 ve % 2.5) ve inulin (% 0.5 ve % 1.0) ilavesinin probiyotik bakteriler üzerindeki etkisini incelemişlerdir. İnülin ve laktulozun, *L.acidophilus* gelişmesini etkilemediği, ancak *B.animalis* Bb-12 sayısını büyük ölçüde artırdığını belirlemişlerdir. Aynı çalışmada galaktoz ve fruktozdan oluşan bir disakkarit olan laktulozun her iki probiyotik suşun gelişmesinde, inülinden daha etkili olduğu ve 14 günlük depolama boyunca inulin ve laktuloz içeren yoğurtlardaki probiyotik canlı sayısının, önerilen terapötik asgari seviyenin üzerinde olduğu da saptanmıştır.

Yapılan bir başka çalışmada, % 1.5 oranında inulin ve Hi-maize ilave edilmiş ABY tipi probiyotik yoğurtlarda *L.acidophilus* sayısı açısından önemli bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$) (Heydari et al., 2011). Öte yandan, çalışmamızda 28 günlük süre boyunca polidekstroz ilavesi, *L.acidophilus*'un canlı kalma oranını inuline oranla daha fazla arttırmıştır. Allgeyer et al. (2010) yapmış oldukları çalışmada da, 30 günlük depolama süresince *L.acidophilus* La-5 ve *B.animalis* Bb-12 içeren yoğurt içeceklerinde çalışmamız ile paralel sonuçlar elde etmişlerdir.

4.4 Probiyotik Bakterilerin *İn Vitro* Gastrointestinal Sindirim Koşulları Altındaki Canlılıkları

Genel olarak bakıldığında, yapılan benzer çalışmalarda *L.acidophilus* ve *B.animalis* Bb-12 canlılığı *in vitro* gastrointestinal sindirim sırasında istatistiksel olarak önemli derecede azalmıştır ($p<0.05$) (Casarotti and Penna, 2015a; Matias et al., 2016). *İn vitro* gastrointestinal sindirim koşullarında *B.animalis* Bb-12 sayısı depolamanın 1. ve 14. günlerinde *L.acidophilus'*a göre daha yüksek saptanmıştır. Birçok çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Casarotti et al., 2014a, b; Casarotti and Penna, 2015a; Casarotti et al., 2015b). Her iki probiyotik bakterinin simüle gastrointestinal koşullara karşı direnci ise depolama süresi boyunca önemli ölçüde azalma göstermiştir. Probiyotik bakterilerin bu davranışlarının bakteri hücrelerinin soğukta depolamada daha fazla strese girmelerinden ve zarara uğramalarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Wang et al., 2009). Vinderola et al. (2011) fermente süt ürününün buzdolabı koşullarında 20 günlük depolama boyunca probiyotik bakterilerin gastrik faza karşı direncinde bakterilerde önemli bir azalma olduğunu belirtmiştir.

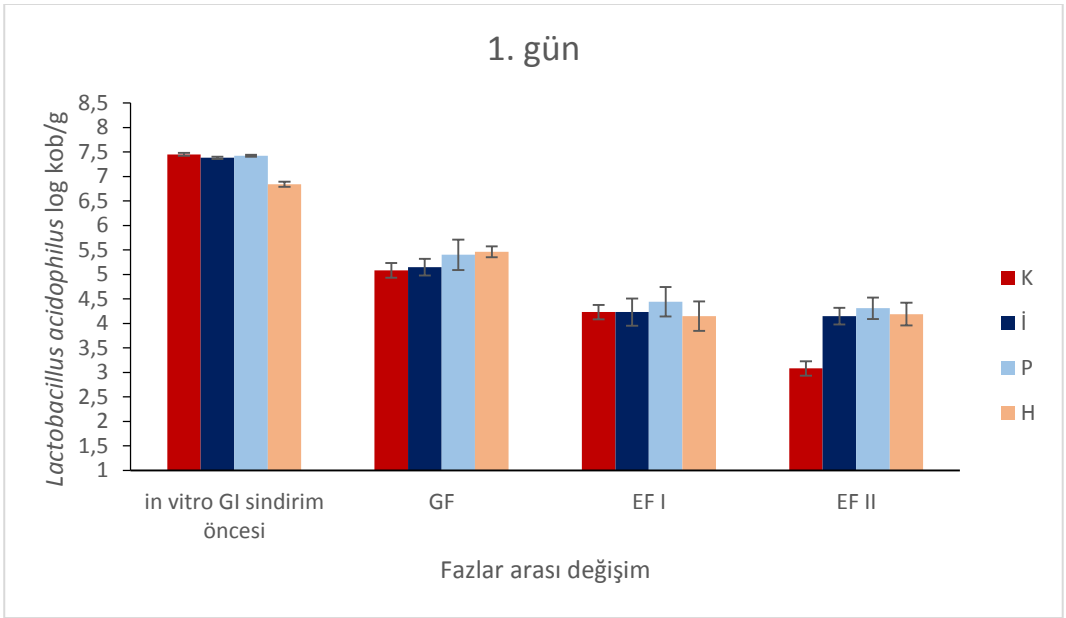
4.4.1 *Lactobacillus acidophilus* canlılığı

Depolamanın 1. gününde *L.acidophilus* sayısı Çizelge 4.10 ve Şekil 4.9'da verilmiştir. Yapılan istatistik analiz sonucunda fazlar arasındaki canlı *L.acidophilus* sayısındaki farkın önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın 1. gününde kontrol örneğinde fazlar arası *Lactobacillus acidophilus* sayısında önemli derecede azalma olduğu ($p<0.05$), diğer ürünlerde ise söz konusu azalmanın sadece gastrik fazdan enterik faz I'e geçerken meydana geldiği görülmüştür. Probiyotik içeren fermente süt ürünlerindeki *L.acidophilus* canlılığının enterik fazlar boyunca genel olarak önemli bir değişikliğe uğramadığı gözlenmiştir. Gastrik fazda en yüksek *L. acidophilus* canlılığı polidekstroz ve Hi-maize ilaveli örneklerde tespit edilirken enterik faz I'de ürünler arasında önemli derecede bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$). Enterik faz II'de ise *L.acidophilus* sayısı en düşük kontrol örneğinde tespit edilmiş olup, diğer üç örnek arasında ise istatistiksel açıdan bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$). Kontrol, inulin, polidekstroz ilaveli ürünlerde ise *in vitro* sindirim öncesi ve gastrik faz arasında farklılığa bakıldığında yaklaşık 2 logaritmik bir azalma, Hi-maize ilaveli üründe ise yaklaşık 1 logaritmik azalma görülmüştür.

Çizelge 4.10. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 1. gününde *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi (n=3)

ÜRÜN	FAZLAR ARASI DEĞİŞİM			
	İn vitro gastrointestinal sindirim öncesi	GF	EF I	EF II
K	7.45 ± 0.03^{Aa}	5.08 ± 0.15^{Bb}	4.23 ± 0.15^{Ac}	3.08 ± 0.15^{Bd}
İ	7.38 ± 0.02^{Ba}	5.15 ± 0.17^{Bb}	4.23 ± 0.28^{Ac}	4.15 ± 0.17^{Ac}
P	7.42 ± 0.02^{Aa}	5.40 ± 0.31^{ABb}	4.44 ± 0.30^{Ac}	4.31 ± 0.22^{Ac}
H	6.84 ± 0.05^{Ca}	5.64 ± 0.11^{Ab}	4.15 ± 0.30^{Ac}	4.19 ± 0.23^{Ac}

K: Kontrol ferrmente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
GF: Gastrik faz sonrası bakteri canlılığı (2 saat), EF I: Enterik faz I sonrası bakteri canlılığı (4 saat), EF II: Enterik faz II sonrası bakteri canlılığı (6 saat)
$^{A,B,C:}$ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.9. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 1. gününde *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi.

Casarotti et al. (2015b) yapmış oldukları çalışmada çeşitli meyve tozları ilaveli fermente sütlerde 28 günlük depolama sonuna kadar simüle gastrointestinal koşullarda *L.acidophilus* miktarında önemli derecede ($p<0.05$) azalma gözlemişlerdir. *L.acidophilus* miktarındaki logaritmik azalma çalışmamızda da olduğu gibi en fazla *in vitro* sindirim öncesinden gastrik faza geçişte gözlenmiştir. Bu durum *L.acidophilus*'un HCI ve pepsin gibi gastrik sıvılara karşı duyarlı olduğunu göstermektedir. 14. depolama gününde elma ve muz tozu ilaveli ürünlerde *L.acidophilus* sayımında artış gözlenmiş, 28 günlük depolama sonunda ise *L.acidophilus*'un canlı kalma oranı, meyve tozu ilaveli ürünlerde kontrol ürününe göre daha yüksek bulunmuştur.

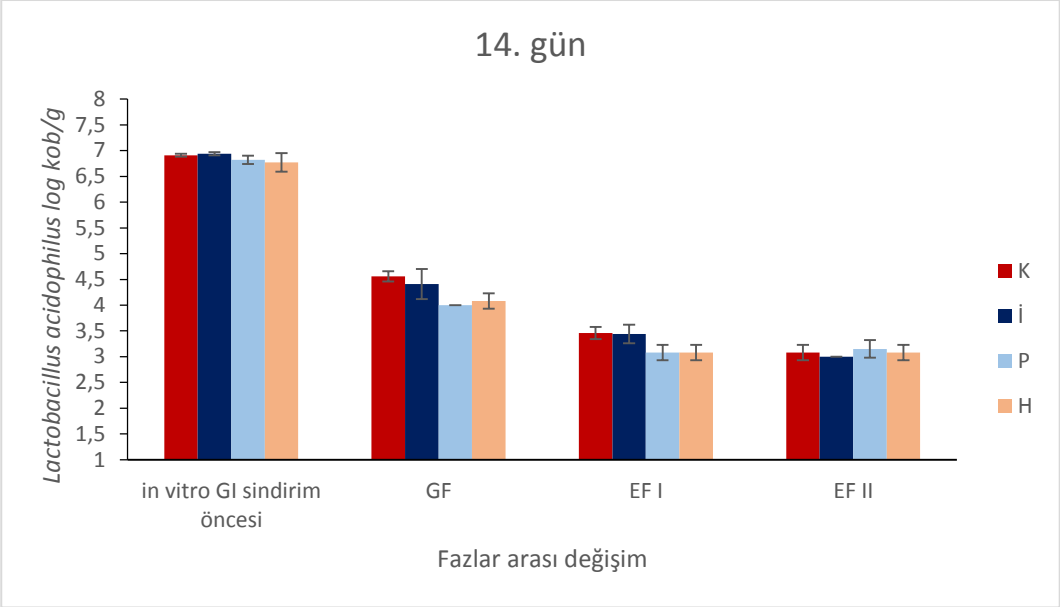
Çizelge 4.11. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 14. gününde *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi (n=3)

ÜRÜN	FAZLAR ARASI DEĞİŞİM			
	İn vitro gastrointestinal sindirim öncesi	GF	EF I	EF II
K	6.91 ± 0.03^{Aa}	4.56 ± 0.10^{Ab}	3.46 ± 0.12^{Ac}	3.08 ± 0.15^{Ad}
İ	6.94 ± 0.03^{Aa}	4.41 ± 0.29^{Ab}	3.44 ± 0.18^{Ac}	3.00 ± 0.00^{Ad}
P	6.82 ± 0.08^{ABa}	4.00 ± 0.00^{Bb}	3.08 ± 0.15^{Bc}	3.15 ± 0.17^{Ac}
H	6.77 ± 0.18^{Ba}	4.08 ± 0.15^{Bb}	3.08 ± 0.15^{Bc}	3.08 ± 0.15^{Ac}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği, P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
GF: Gastrik faz sonrası bakteri canlılığı (2 saat), EF I: Enterik faz I sonrası bakteri canlılığı (4 saat), EF II: Enterik faz II sonrası bakteri canlılığı (6 saat)
$^{A,B:}$ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
$^{a,b,c,d:}$ Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Çalışmamızda üretilen probiyotik fermente süt ürünlerinde depolamanın 14. gününde *L.acidophilus* sayılarının gastrointestinal fazlar arası değişimi incelendiğinde; fazlar arasındaki farkın önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.11, Şekil 4.10). Kontrol ve inulin ilaveli örneklerdeki *L.acidophilus*

sayılarında *in vitro* gastrointestinal sindirim süresi ilerledikçe sürekli bir azalma olduğu ($p<0.05$), polidekstroz ve Hi-maize içeren ürünlerde ise canlılığın enterik faz I sonuna kadar önemli derecede düşüş gösterdiği daha sonra ise değişmediği saptanmıştır.



Şekil 4.10. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 14. gününde *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi.

Depolamanın 14. gününde, gastrik faz ve enterik faz I'de kontrol örneği ve inulin ilaveli örnek en yüksek *L.acidophilus* sayısına sahip olurken ($p<0.05$), enterik faz II'de fermente süt ürünleri arasında önemli derecede fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Gastrik fazdan enterik faz I'e geçerken tüm ürünlerde 1 logaritmik azalma, enterik faz I'den enterik faz II'ye geçerken ise logaritmik azalma ya da artma görülmemiştir.

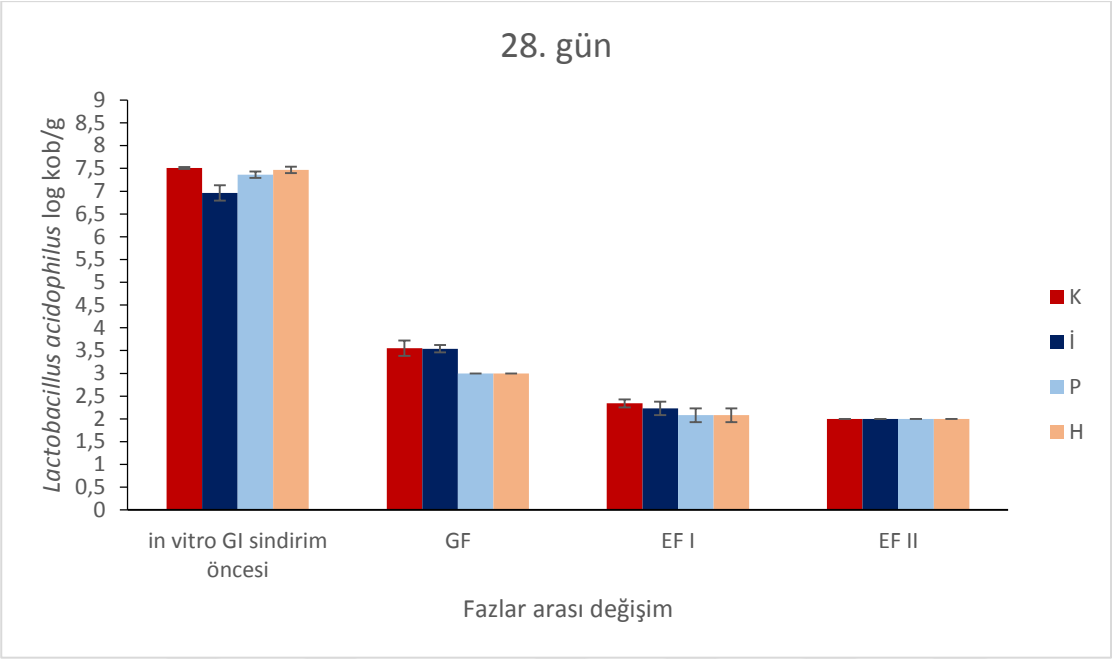
Casarotti et al. (2014b) kinoa ilaveli fermente sütte yapmış oldukları çalışmada *L.acidophilus* La-5 sayısında gastrointestinal sistemin simüle koşulları boyunca fazlar arası geçiş sırasında önemli bir azalma ($p<0.05$) olduğunu gözlemlemişlerdir. Kinoa ununun ürünler arası probiyotik suşların direnci üzerindeki koruyucu etkisi mikrobiyolojik açıdan önemli bulunmayıp ($p>0.05$) *in vitro* gastrointestinal sindirim sonunda kontrol ürünü ile % 1, % 2 ve % 3 kinoa unu ilaveli ürünler kıyaslandığında probiyotik sayımlar arasındaki fark 1 log kob

/g'dan az olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada deney sonunda tüm ürünlerde *L.acidophilus* miktarında 1. depolama gününde 3 logaritmik azalma, 14. günde kontrol ürününde 4 logaritmik, kinoa ilaveli üründe 3 logaritmik azalma görülmüş, 28. günde ise tüm ürünlerde 4 logaritmik düşüş olduğu saptanmıştır. Bunun yanında *L.acidophilus*'un gastrik fazdan enterik faza göre daha çok etkilendiği belirtilmekte olup kinoa unu ilavesinin, gastrointestinal sistemin gastrik ve enterik fazlarında probiyotiklerin hayatta kalması için bir miktar koruma sağladığı da rapor edilmiştir.

Çizelge 4.12. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 28. gününde *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi (n=3)

ÜRÜN	FAZLAR ARASI DEĞİŞİM			
	İn vitro gastrointestinal sindirim öncesi	GF	EF I	EF II
K	7.51 ± 0.02^{Aa}	3.55 ± 0.17^{Ab}	2.34 ± 0.09^{Ac}	2.00 ± 0.00^{Ad}
İ	6.96 ± 0.17^{Ca}	3.54 ± 0.08^{Ab}	2.23 ± 0.15^{Ac}	2.00 ± 0.00^{Ad}
P	7.36 ± 0.07^{Ba}	3.00 ± 0.00^{Bb}	2.08 ± 0.15^{Bc}	2.00 ± 0.00^{Ac}
H	7.47 ± 0.07^{ABa}	3.00 ± 0.00^{Bb}	2.08 ± 0.15^{Bc}	2.00 ± 0.00^{Ac}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
GF: Gastrik faz sonrası bakteri canlılığı (2 saat), EF I: Enterik faz I sonrası bakteri canlılığı (4 saat), EF II: Enterik faz II sonrası bakteri canlılığı (6 saat)
$^{A,B,C:}$ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
$^{a,b,c,d.}$: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.11. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 28. gününde *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi.

Üretilen probiyotik fermente süt ürünlerinde depolamanın 28. gününde *L.acidophilus* sayılarının gastrointestinal fazlar arası değişimine bakıldığında; tüm fermente süt örneklerinde *in vitro* gastrointestinal sindirim boyunca istatistiksel olarak azalma saptanmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4.12, Şekil 4.11). *L.acidophilus* sayıları ise 2.00-3.55 log kob/g arasında değişmiştir. Ürünler arası farklılığa bakıldığında en yüksek *L.acidophilus* sayımı gastrik faz ve enterik faz I'de kontrol örneği ile inulin ilaveli örnekte tespit edilmiştir. Depolamanın 14. gününde olduğu gibi enterik faz II'de *L.acidophilus* canlılığı açısından ürünler arasında istatistiksel olarak fark görülmemiştir ($p>0.05$). Tüm ürünlerde gastrik fazdan enterik faz II'ye geçerken yaklaşık 1 logaritmik azalma olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda *L.acidophilus* uygulanan simüle *in vitro* gastrointestinal sindirim koşulları altındaki canlılığı genel olarak yorumlandığında;

Fermente süt ürünleri 2 saatlik gastrik faza maruz bırakıldıklarında *L.acidophilus* miktarında 2-3 logaritmik bir azalma meydana gelmiştir. Bu durum, *L.acidophilus*'un HCI ve pepsin enzimi içeren simüle gastrik suya karşı duyarlı olduğunu göstermektedir, çünkü depolama boyunca *L.acidophilus*'un miktarında

en fazla azalma gastrik faz sırasında gözlenmiştir. Bu durum ayrıca tür ve suşa göre değişiklik gösteren laktik asit bakterilerinin asit toleransına ve dış koşullara, gelişme ortamına ve inkübasyon parametrelerine bağlı olabilmektedir. (Madureira et al., 2011). Söz konusu bakterinin analizin enterik fazlarında pH değeri arttıkça herhangi bir geri kazanım elde edilememiştir. Buna karşın, Buriti et al. (2010), hem kontrol ürününde hem de inulin ilaveli sinbiyotik guava püresinde pH artışı sonrasında *L.acidophilus*'un canlılığında geri kazanım tespit etmişlerdir. Araştırmacılar bunu, probiyotik hücrelerin düşük pH seviyelerine karşı gösterdikleri geçici stresiyle açıklamışlardır. Çalışmalar arasındaki bu farklılık çalışmalarda kullanılan farklı üründen ve ilave edilen prebiyotik oranından kaynaklanabilir**.**

Fermente süt örneklerinde gastrik faz açısından bakıldığında istatistiksel olarak önemli farklar olmasına rağmen, ürünlerdeki *L.acidophilus* miktarı depolamanın 1., 14. ve 28. günlerinde 6 saatlik analiz sonrasında benzer bulunmuştur. Depolamanın 1. gününde polidekstroz ve Hi-maize dirençli nişasta ilavesi gastrik fazın düşük pH (2.2-2.6) varlığında *L.acidophilus* hücreleri üzerinde koruma sağlamasına rağmen en yüksek sayımlar Hi-maize dirençli nişasta ile zenginleştirilmiş fermente sütde tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara paralel olarak, yapılan bir çalışmada *L.acidophilus* mikroenkapsülasyonu için Hi-maize dirençli nişastanın kullanımı simüle edilen sindirim sisteminin düşük pH değerine karşı bakteri dirençliliğini arttırmıştır (de Araujo Etchepare et al., 2016). Çalışmamızın 1. gününde pH 4.3-5.2'ye çıkarıldığında ($p>0.05$) örnekler arası farklılık önemsiz bulunmuştur. Buna karşın, inulin ile zenginleştirme polidekstroz ve Hi-maize dirençli nişasta ile zenginleştirme ile karşılaştırıldığında 14. ve 28. günlerde gastrik ve enterik I fazlarında *L.acidophilus* canlılığında artışa sebep olmuştur. İnulinin söz konusu koruyucu etkisi onun gastrointestinal bölgedeki enzimler tarafından hidrolizasyona dirençli olmasına ve kısa zincirli fruktooligosakkaritlerle karşılaştırıldığında daha yüksek polimerizasyon derecesine sahip olmasına bağlanabilir. Yüksek polimerizasyon derecesine sahip olan inulin hem düşük çözünürlük hem de ilave edildiği gıda matriksi içerisinde 3 boyutlu mikrokristal ağlar oluşturabilme kapasitesi göstermektedir (Buriti et al., 2010).

Bedani et al. (2013) inulinin fermente soya ürünü üzerine yaptıkları çalışmada simüle gastrointestinal koşullar altındaki *L.acidophilus* La-5 canlı üzerinde herhangi bir koruyucu etkisi olmadığını gözlemlemişlerdir. *İn vitro* analiz sırasında inülinin koruyucu etkisinin olmaması söz konusu çalışmada kullanılan inulinin polimerizasyon derecesine (yaklaşık 10 olarak bulunan) bağlanmıştır.

Nazzaro et al. (2012) *L.acidophilus* DSM 20079 suşunun simüle gastrik ve enterik sulara karşı dirençliliğini MRS broth ortamında araştırmışlardır. Söz konusu çalışmada inulin varlığındaki hücre stres dirençliliği kontrol grubuna (glukoz) göre daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamız ile zıtlık gösteren bu durum farklı suş, ortam ve kullanılan *in vitro* yöntemden kaynaklanabilir. Yapılan diğer bir çalışmada, ABT-4 kültürü içeren petit-suisse peynirine inulin ve fruktooligosakkarit karışımının ilavesinin edilmesi 6 saat süren *in vitro* simüle deney sonucunda probiyotik canlılığı üzerinde koruyucu bir etki gösterdiği tespit edilmiştir (Padilha et al., 2016). Araştırmacılar prebiyotiklerin bu koruyucu etkisinin gıda matriksine özel olabileceğini vurgulamışlardır.

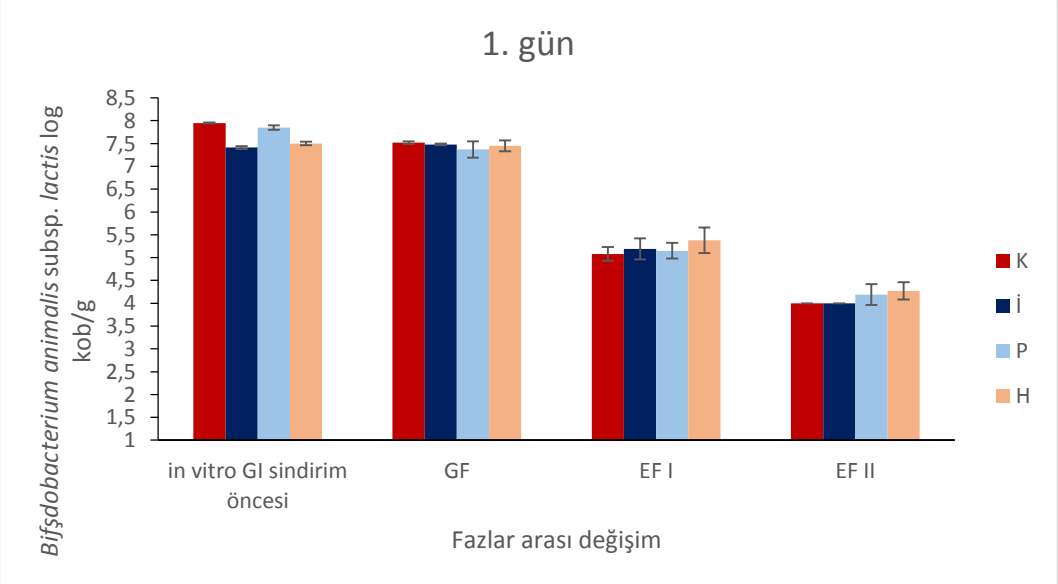
4.4.2 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* canlılığı

Çalışmamızda üretilen probiyotik fermente süt ürünlerinde depolamanın 1. gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının gastrointestinal fazlar arası değişimi incelendiğinde; fazlar arasındaki farkın önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.13, Şekil 4.12). Tüm ürünlerde gastrik fazdan enterik faz I'e geçerken yaklaşık 2 logaritmik azalma, enterik faz I'den enterik faz II'e geçerken ise yaklaşık 1 logaritmik bir azalma olduğu görülmüştür. Depolama boyunca *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayısı 4.00-7.52 log kob/g arasında değişiklik göstermiştir. Ürünler arası farklılığa bakıldığında gastrik ve enterik faz I'de farkın önemsiz ($p>0.05$), enterik faz II'de ürünler arası farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Uygulanan 6 saatlik deney sonucunda en yüksek *B.animalis* sayısı Hi-maize ilave edilen fermente sütte saptanırken, polidekstroz ilavesinin de canlılığı en az Hi-maize kadar arttırdığı görülmüştür.

Çizelge 4.13. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 1. gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişim (n=3)

ÜRÜN	FAZLAR ARASI DEĞİŞİM			
	İn vitro gastrointestinal sindirim öncesi	GF	EF I	EF II
K	7.95 ± 0.01^{Aa}	7.52 ± 0.03^{Ab}	5.08 ± 0.15^{Ac}	4.00 ± 0.00^{Bd}
İ	7.41 ± 0.03^{Da}	7.48 ± 0.02^{Aa}	5.19 ± 0.23^{Ab}	4.00 ± 0.00^{Bc}
P	7.85 ± 0.05^{Ba}	7.37 ± 0.18^{Ab}	5.15 ± 0.17^{Ac}	4.19 ± 0.23^{ABd}
H	7.50 ± 0.04^{Ca}	7.45 ± 0.12^{Aa}	5.38 ± 0.28^{Ab}	4.27 ± 0.19^{Ac}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
GF: 2 saatlik gastrik faz sonrası bakteri canlılığı, EF I: 4 saatlik enterik faz I sonrası bakteri canlılığı, EF II: 6 saatlik enterik faz II sonrası bakteri canlılığı
^{A,B,C,D} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b,c,d} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).



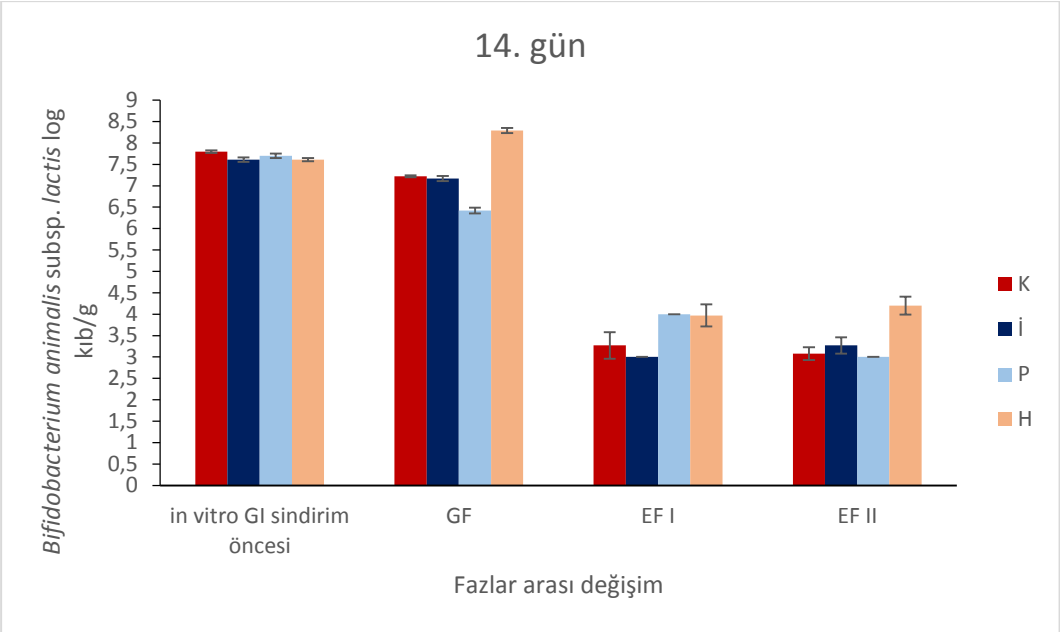
Şekil 4.12. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 1. gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi.

Çizelge 4.14. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 14.gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi (n=3)

ÜRÜN	FAZLAR ARASI DEĞİŞİM			
	İn vitro gastrointestinal sindirim öncesi	GF	EF I	EF II
K	7.80 ± 0.03^{Aa}	7.22 ± 0.02^{Bb}	3.27 ± 0.31^{Bc}	3.08 ± 0.15^{BCc}
İ	7.61 ± 0.05^{Ca}	7.17 ± 0.06^{Bb}	3.00 ± 0.00^{Bd}	3.27 ± 0.19^{Bc}
P	7.70 ± 0.05^{Ba}	6.42 ± 0.07^{Cb}	4.00 ± 0.00^{Ac}	3.00 ± 0.00^{Cd}
H	7.61 ± 0.04^{Cb}	8.29 ± 0.12^{Aa}	3.97 ± 0.26^{Ac}	4.20 ± 0.21^{Ac}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
GF: 2 saatlik gastrik faz sonrası bakteri canlılığı, EF I: 4 saatlik enterik faz I sonrası bakteri canlılığı, EF II: 6 saatlik enterik faz II sonrası bakteri canlılığı
^{A,B,C} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b,c,d} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Yapılan istatistik analiz sonucunda depolamanın 14. gününde fazlar arasındaki farkın önemli ($p<0.05$) olduğu ve tüm örneklerde fazlar arası *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayısında genel olarak giderek azalma olduğu Çizelge 4.14 ve Şekil 4.13'de gösterilmiştir. *İn vitro* gastrointestinal sindirim öncesi en yüksek sayım kontrol örneğinde bulunurken, en düşük *B. lactis* sayımı İ ve H örneğinde tespit edilmiştir. Gastrik fazda ise *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayısı en yüksek H örneğinde görülürken, en düşük sayım P örneğinde saptanmıştır. Hi-maize içeren örneğin diğer prebiyotikleri ihtiva eden örneklere kıyasla mide koşullarına daha dirençli olduğu söylenebilmektedir. Enterik faz I'den enterik faz II'ye geçerken sadece İ örneğinde istatistiksel anlamda artış, P örneğinde önemli derecede azalma ($p<0.05$) tespit edilmiş, K ve H örneklerinde ise önemli bir değişiklik görülmemiştir ($p>0.05$).



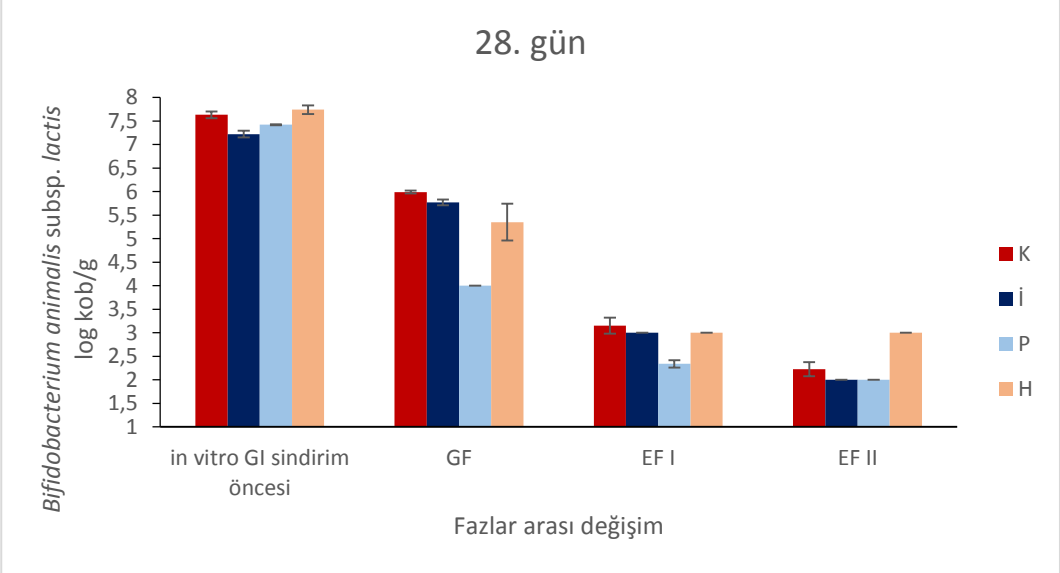
Şekil 4.13. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 14. gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi.

Çizelge 4.15. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 28.gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) fazlar arası değişimi (n=3)

ÜRÜN	FAZLAR ARASI DEĞİŞİM			
	İn vitro gastrointestinal sindirim öncesi	GF	EF I	EF II
K	7.63 ± 0.07^{Ba}	5.99 ± 0.03^{Ab}	3.15 ± 0.17^{Ac}	2.23 ± 0.15^{Bd}
İ	7.22 ± 0.07^{Da}	5.77 ± 0.06^{Ab}	3.00 ± 0.00^{Ac}	2.00 ± 0.00^{Cd}
P	7.42 ± 0.01^{Ca}	4.00 ± 0.00^{Cb}	2.34 ± 0.08^{Bc}	2.00 ± 0.00^{Cd}
H	7.74 ± 0.09^{Aa}	5.35 ± 0.39^{Bb}	3.00 ± 0.00^{Ac}	3.00 ± 0.00^{Ac}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği, P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
GF: 2 saatlik gastrik faz sonrası bakteri canlılığı, EF I:4 saatlik enterik faz I sonrası bakteri canlılığı, EF II: 6 saatlik enterik faz II sonrası bakteri canlılığı
^{A,B,C} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b,c,d} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Depolamanın 28. günü için yapılan istatistik analiz sonucunda fazlar arasındaki farkın önemli ($p<0.05$) olduğu ve tüm örneklerde deney boyunca *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayısında giderek azalma olduğu görülmüştür (Çizelge 4.15, Şekil 4.14). *İn vitro* gastrik faz sonunda tüm örneklerde yaklaşık 2 logaritmik bir azalmanın meydana geldiği görülmektedir. Depolamanın 28. gününde polidekstroz ilaveli fermente süt ürününde tüm fazlarda en düşük *B.animalis* sayısı saptanmıştır. Gastrik fazda K ve İ örneği en yüksek *B.animalis* canlılığına sahip olurken enterik faz I'de K, İ ve H örnekleri arasında istatistiksel açıdan herhangi bir fark bulunmamıştır. 6 saat süren *in vitro* gastrointestinal sindirim sonunda ise en yüksek canlı *B.animalis* sayısı Hi-maize dirençli nişasta ilave edilen fermente süt ürününde belirlenmiştir.



Şekil 4.14. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolamanın 28. gününde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) gastrointestinal fazlar arasındaki değişimi.

Çalışmamızda *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*'in uygulanan simüle *in vitro* gastrointestinal sindirim koşulları altındaki canlılığı genel olarak yorumlandığında;

B. animalis Bb-12'nin depolamanın 1. ve 14. günlerinde tüm fermente süt ürünlerinde *in vitro* gastrik koşullara yüksek oranda dirençli olduğu tespit edilirken depolama süresi sonunda canlı bakteri sayısının 2 saat süren gastrik faz

sonrasında 1-2 logaritmik birim azaldığı ($p<0.05$) saptanmıştır. *B.animalis* Bb-12 safra ve pankreatin varlığında *L.acidophilus*'a göre daha yüksek oranda canlılık göstermesine rağmen deneyin enterik fazlarında *B.animalis* Bb-12 sayımında önemli derecede azalma tespit edilmiştir ($p<0.05$).

B. animalis Bb-12 canlılığının simüle *in vitro* gastrointestinal koşullar sırasında *L.acidophilus*'a göre yüksek olduğu diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Bedani et al., 2013; 2014; Casarotti and Penna, 2015a). Crittenden et al. (2001) *B.animalis* Bb-12'nin araştırılan diğer ticari suşlar arasında hem asit hem de proteaza karşı dirençli olduğunu ve bir *in vitro* modelde rahatlıkla gelişebileceğini belirlemişlerdir. *Bifidobacterium* suşlarının gastrointestinal çevreye karşı toleranslarını geliştirebilmeleri herhangi bir suşun gastrointestinal bölgedeki performansı açısından önemli bir faktör olduğu bildirilmektedir. Bunun yanında Bifidobakteriler kendi enzimatik sistemlerini gastrointestinal bölge boyunca bulunan faklı bariyerlere adapte edebilme kabiliyetine sahiptirler. Bifidobakteriler membrana bağlı olan ve protonları sitoplazmadan dış çevreye pompalayan FOF1- ATPaz enzim aktivitesini attırırlar. Bakteri hücreleri asidik ortamla karşılaştıklarında söz konusu enzim yüksek oranda üretilmekte ve böylece hücre içi pH mükemmel bir şekilde kontrol altına alınabilmektedir (Sanchez et al., 2013). Söz konusu bu mekanizma çalışmamızda da gözlenen *B.animalis* Bb-12'nin simüle gastrointestinal koşullarına yüksek oranda direnç göstermesinin sebebi olabilir. Bifidobakterilerin bazı suşları mide koşullarında asit stresine sahip olabileceğinden suşların içsel toleransları belirleyici bir etkiye sahiptir (Collado and Shaz, 2007; Huang et al., 2014). Bunun yanında Begley et al. (2005) Gram pozitif bakterilerin safraya karşı toleranslarının suşa bağlı bir özellik olduğunu bundan dolayı bütün türler için genelleme yapılmaması gerektiğini vurgulamışlardır.

Çalışmamızda depolamanın 1. gününde *B.animalis* Bb-12 sayımında enterik faz II dışındaki fazlarda örnekler arası önemli bir farklılık bulunmamıştır. Hi-maize dirençli nişasta ile zenginleştirilmiş *B.animalis* Bb-12 canlılığını 6 saat sonunda önemli düzeyde arttırmıştır. Genel olarak bakıldığında Hi-maize dirençli nişasta ilavesinin *B.animalis* Bb-12 canlılığı üzerindeki etkisi en etkin enterik faz II'de gözlenmiştir. Bu durum dirençli nişastanın gastrointestinal bölgenin ilk

kısmında düşük derecede degredasyonuna uğramasına ve böylece kalın bağırsağa ulaşarak prebiyotik etki göstermesine bağlanabilir (Fuentes-Zaragoza et al., 2011; Zaman and Sarbini, 2016). Buna ek olarak; ayrıca Nugent (2005) dirençli nişastaların 2. sınıfına dahil olan Hi-maize'in sindirim enzimlerini hidrolizasyona karşı koruyan yapılandırılmış granüller içerdiğini bildirmiştir.

Probiyotik bakteriler konakçı üzerinde sağlık etkileri gösterebilmeleri için ürünün hem tüketim anında hem de kalın bağırsağa ulaştıkları zaman yeterli konsantrasyonda bulunmalıdırlar (Shah, 2000). Simüle *in vitro* gastrointestinal deneyler vasıtasıyla bakterilerin canlılığı hakkında bilgi edinilmekte fakat hücrelerin probiyotik aktiviteleri kaybedip kaybetmedikleri hakkında bir değerlendirme yapılamamaktadır. Halbuki, yapılan bazı çalışmalarda iltihap giderme gibi bazı sağlık etkileri ölü probiyotik hücreler tarafından da gösterilebileceği bundan dolayı terapotik etkiler için canlı probiyotik hücrelerin zorunlu olmadığı rapor edilmiştir (Adams, 2010).

Sanders and Marco (2010) gastrointestinal sindirim sırasındaki probiyotik bakteri canlılığını diyet bileşiminin ve gıda ingrediyenlerinin etkileyebileceğini bildirmişlerdir. Probiyotik bakteriler diyet içerisinde tüketildiğinde, bazı diyet bileşenlerinin safra asitlerini bağlama sebeplerle söz konusu bakteriler safra ile direkt temas etmemekte ve böylece bu asitlerin probiyotikler üzerindeki toksik etkisinden koruma sağlanmaktadır (Begley et al., 2005). Yemek esnasında ve yemekten sonraki gastrointestinal ortamda meydana gelebilecek değişiminde gıdaların tamponlama kapasitesinden dolayı önem taşıdığı bildirilmiştir (Morelli, 2000).

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre; inulin ilavesinin diğer prebiyotiklere göre *L.acidophilus* La-5 canlılığını arttırdığı, Hi-maize dirençli nişastanın ise simüle gastrointestinal koşullar altındaki canlı *B.animalis* Bb-12 sayısını artırmak üzere tercih edilebilecek bir prebiyotik ingrediyen olduğu görülmektedir. Bundan dolayı fermente süt ürünleri üretiminde uygun bir prebiyotik seçiminin bağırsaklardaki probiyotik dirençliliğinin arttrılmasında katkıda bulunacağı söylenebilir. Ancak bu noktada probiyotiklerin asit ve safra toleranslarının türe ve suşa spesifik olduğu unutulmamalıdır (Ranadheera et al., 2014).

4.5 Probiyotik Bakterilerin *İn Vitro* Sindirim Koşullarını Oluşturan Fazlardaki Canlılıklarının Depo Süresince Gözlenen Değişimleri

4.5.1 *Lactobacillus acidophilus* canlılığı

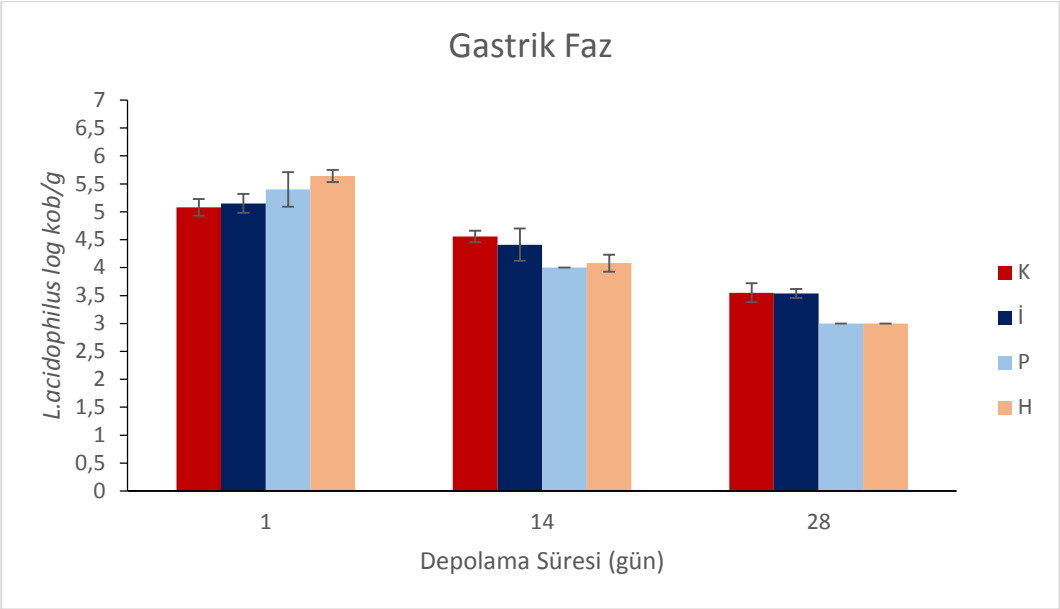
Gastrik fazda en yüksek *L.acidophilus* miktarı depolamanın 1. gününde Hi-maize ilaveli fermente sütte, en düşük miktar ise 28. gün polidekstroz ve Hi-maize ilaveli örneklerde bulunmuştur (Çizelge 4.16, Şekil 4.15).

Çizelge 4.16. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayısının Gastrik Faz'da depolama süresi boyunca değişimi (n=3)

ÜRÜN	GASTRİK FAZ		
	1	14	28
K	5.08 ± 0.15^{Ba}	4.56 ± 0.10^{Ab}	3.55 ± 0.17^{Ac}
İ	5.15 ± 0.17^{Ba}	4.41 ± 0.29^{Ab}	3.54 ± 0.08^{Ac}
P	5.40 ± 0.31^{ABa}	4.00 ± 0.00^{Bb}	3.00 ± 0.00^{Bc}
H	5.64 ± 0.11^{Aa}	4.08 ± 0.15^{Bb}	3.00 ± 0.00^{Bc}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B,C} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).
^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

Tüm örneklerin *in vitro* deneyin gastrik fazındaki *L.acidophilus* canlılıklarına bakıldığında önemli derecede depolama süresi boyunca düşüş olduğu gözlenmektedir. Depolamanın 1. gününde polidekstroz ve Hi-maize ilavesi fermente sütlerde mide koşullarına karşı dirençlilik sağlasa da 14. ve 28. günlerde aynı etki görülmemektedir.



Şekil 4.15. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) Gastrik Faz'da depolama süresince değişimi.

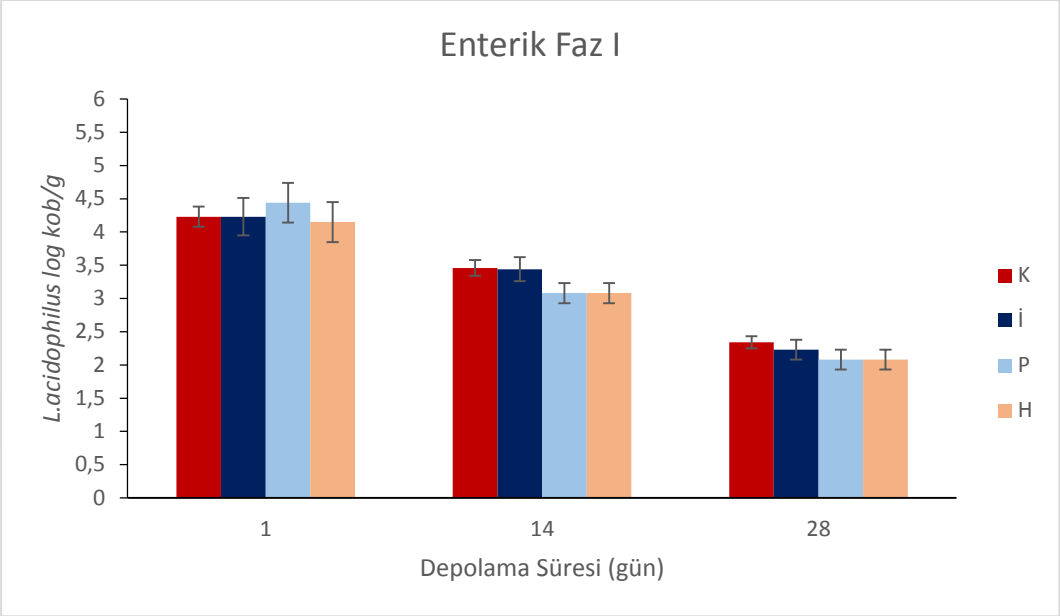
Çizelge 4.17. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayısının Enterik Faz I'de depolama süresi boyunca değişimi (n=3)

ÜRÜN	ENTERİK FAZ I		
	1	14	28
K	4.23 ± 0.15^{Aa}	3.46 ± 0.12^{Ab}	2.34 ± 0.09^{Ac}
İ	4.23 ± 0.28^{Aa}	3.44 ± 0.18^{Ab}	2.23 ± 0.15^{Ac}
P	4.44 ± 0.30^{Aa}	3.08 ± 0.15^{Bb}	2.08 ± 0.15^{Bc}
H	4.15 ± 0.30^{Aa}	3.08 ± 0.15^{Bb}	2.08 ± 0.15^{Bc}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B,C} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Enterik faz I'e bakıldığında 28 günlük depolama boyunca *L.acidophilus* miktarı 2.08-4.44 log kob/g arasında değişmiştir (Çizelge 4.17, Şekil 4.16). En yüksek sayım 1. gün polidekstroz ilaveli örnekte görülürken, en düşük sayım 28. günde P ve H örneğinde tespit edilmiştir. 1. gün örnekler arası önemli bir fark görülmezken ($p>0.05$), 14. ve 28. gün örnekler arasında fark önemli bulunmuştur

($p<0.05$). Depolamanın 14. ve 28. günlerinde enterik faz I sonunda yapılan sayımlarda en yüksek sayımlar kontrol ve inulin ilaveli örneklerde gözlenmiştir. Depo boyunca tüm örnekler incelendiğinde *L.acidophilus* miktarının giderek azaldığı görülmüştür.



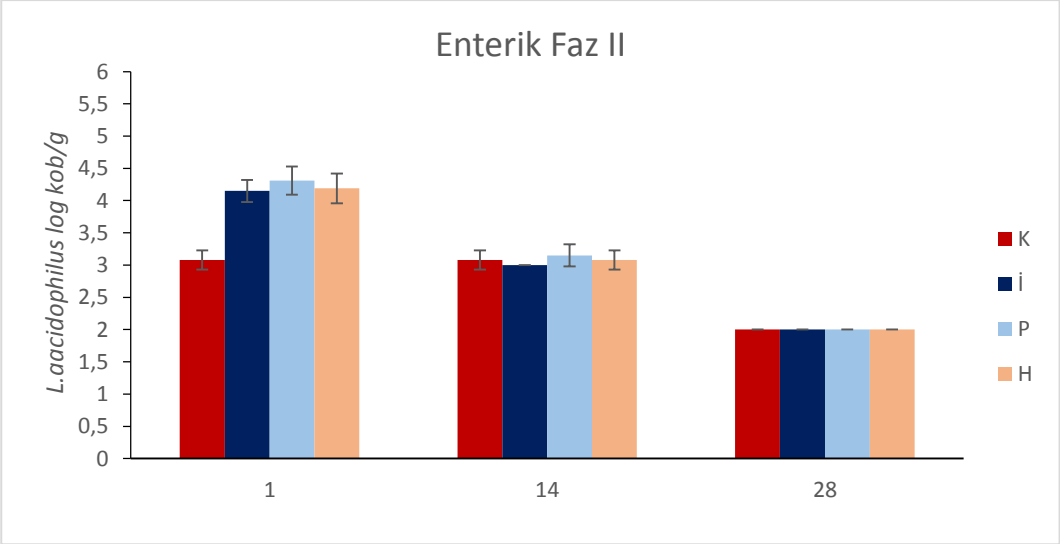
Şekil 4.16. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) enterik faz I'de depolama süresince değişimi.

Çizelge 4.18. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayısının Enterik Faz II'de depolama süresi boyunca değişimi (n=3)

ÜRÜN	ENTERİK FAZ II		
	1	14	28
K	3.08 ± 0.15^{Ba}	3.08 ± 0.15^{Aa}	2.00 ± 0.00^{Ab}
İ	4.15 ± 0.17^{Aa}	3.00 ± 0.00^{Ab}	2.00 ± 0.00^{Ac}
P	4.31 ± 0.22^{Aa}	3.15 ± 0.17^{Ab}	2.00 ± 0.00^{Ac}
H	4.19 ± 0.23^{Aa}	3.08 ± 0.15^{Ab}	2.00 ± 0.00^{Ac}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B,C} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).
^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

Enterik faz II sonunda yapılan mikrobiyolojik ekim sonuçları incelendiğinde 28 günlük depolama boyunca *L.acidophilus* miktarı 2.00-4.31 log kob/g arasında değişmiştir. En yüksek sayım enterik faz I'de olduğu gibi 1. gün polidekstroz ilaveli örnekte görülürken, en düşük sayım 28. günde tüm örneklerde görülmüştür. 1. gün örnekler arası önemli bir fark görülürken ($p<0.05$), 14. ve 28. gün örnekler arasındaki fark önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). 1. günde prebiyotik içeren tüm çeşitler enterik faz II koşullarına karşı eşit oranda dirençlilik göstermiştir. Depo boyunca tüm örnekler incelendiğinde *L.acidophilus* miktarının giderek azaldığı da görülmüştür.



Şekil 4.17. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Lactobacillus acidophilus* sayılarının (log kob/g) Enterik FZaz II'de depolama süresince değişimi.

4.5.2 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* canlılığı

Gastrik faz incelendiğinde 28 günlük depolama boyunca *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* miktarı 4.00-8.29 log kob/g arasında değişmiştir (Çizelge 4.19, Şekil 4.18). En yüksek sayım 14. günde Hi-maize dirençli nişasta ilaveli örnekte görülürken, en düşük sayım 28. günde polidekstroz ilaveli örnekte saptanmıştır. 1. gün örnekler arası önemli bir fark görülmezken ($p>0.05$), 14. ve 28. günlerde örnekler arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Depo boyunca tüm örnekler incelendiğinde *B.animalis* miktarının depolama sonunda 1. güne kıyasla önemli derecede azaldığı görülmüştür.

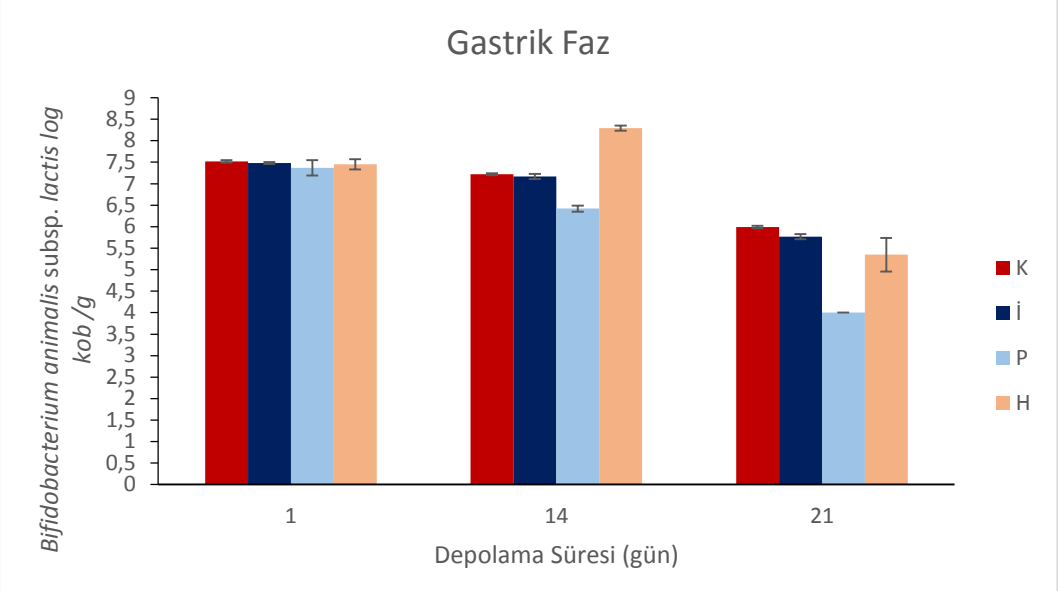
Çizelge 4.19. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayısının Gastrik Faz'da depolama süresi boyunca değişimi (n=3)

ÜRÜN	GASTRİK FAZ		
	1	14	28
K	7.52 ± 0.03^{Aa}	7.22 ± 0.02^{Bb}	5.99 ± 0.03^{Ac}
İ	7.48 ± 0.02^{Aa}	7.17 ± 0.06^{Bb}	5.77 ± 0.06^{Ac}
P	7.37 ± 0.18^{Aa}	6.42 ± 0.07^{Cb}	4.00 ± 0.00^{Cc}
H	7.45 ± 0.12^{Ab}	8.29 ± 0.06^{Aa}	5.35 ± 0.39^{Bc}

K: Prebiyotik ilavesiz fermente süt örneği, İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği, P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği

^{A,B,C} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).



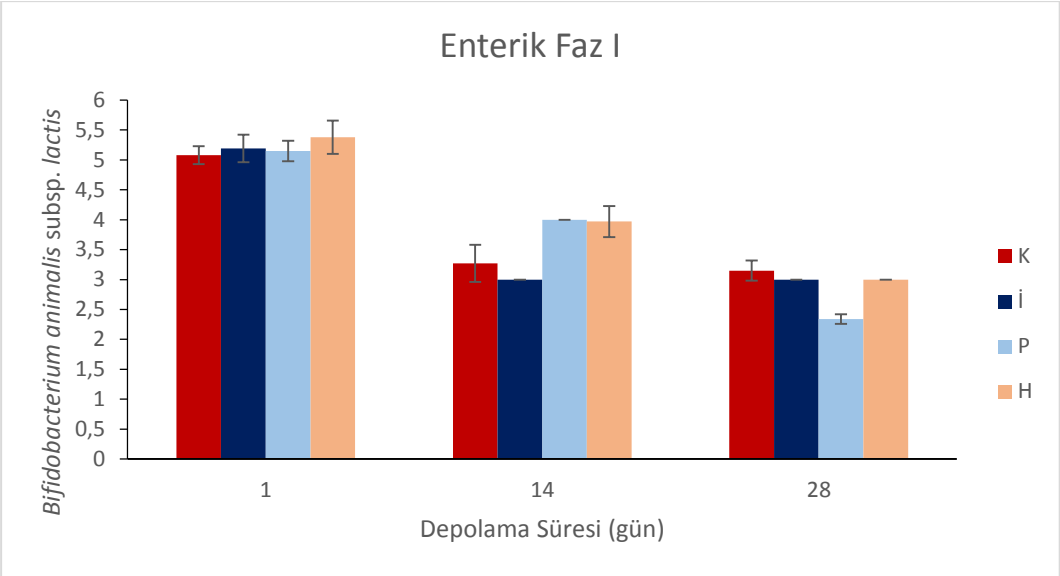
Şekil 4.18. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) Gastrik Faz'da depolama süresince değişimi.

Çizelge 4.20. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayısının Enterik Faz I'de depolama süresi boyunca değişimi (n=3)

ÜRÜN	ENTERİK FAZ I		
	1	14	28
K	5.08 ± 0.15^{Aa}	3.27 ± 0.31^{Bb}	3.15 ± 0.17^{Ab}
İ	5.19 ± 0.23^{Aa}	3.00 ± 0.00^{Bb}	3.00 ± 0.00^{Ab}
P	5.15 ± 0.17^{Aa}	4.00 ± 0.00^{Ab}	2.34 ± 0.08^{Bc}
H	5.38 ± 0.28^{Aa}	3.97 ± 0.26^{Ab}	3.00 ± 0.00^{Ac}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B,C} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Enterik faz I incelendiğinde depolama boyunca *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* miktarı 2.34- 5.38 log kob/g arasında değişmiştir (Çizelge 4.20, Şekil 4.21). En yüksek sayım 1. gün gastrik fazda olduğu gibi Hi-maize dirençli nişasta ilaveli örnekte görülürken, en düşük sayım 28. günde polidekstroz ilaveli örnekte görülmüştür. 1. gün örnekler arası önemli bir fark görülmezken ($p>0.05$), 14. ve 28. gün örnekler arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Depo boyunca tüm örnekler incelendiğinde enterik faz I sonunda belirlenen *B.animalis* canlılığının tüm ürünlerde 28. günde depolama başına kıyasla azaldığı görülmüştür ($p<0.05$).



Şekil 4.19. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) Enterik Faz I'de depolama süresince değişimi.

Çizelge 4.21. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayısının Enterik Faz II'de depolama süresi boyunca değişimi (n=3)

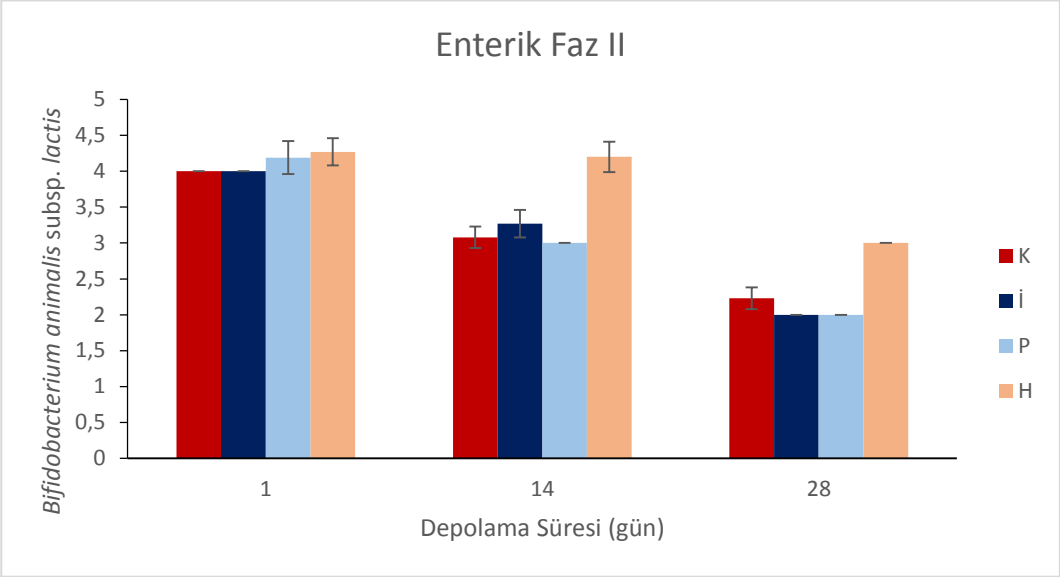
ÜRÜN	ENTERİK FAZ II		
	1	14	28
K	4.00 ± 0.00^{Ba}	3.08 ± 0.15^{BCb}	2.23 ± 0.15^{Bc}
İ	4.00 ± 0.00^{Ba}	3.27 ± 0.19^{Bb}	2.00 ± 0.00^{Cc}
P	4.19 ± 0.23^{ABa}	3.00 ± 0.00^{Cb}	2.00 ± 0.00^{Cc}
H	4.27 ± 0.19^{Aa}	4.20 ± 0.21^{Aa}	3.00 ± 0.00^{Ab}

K: Prebiyotik ilavesiz fermente süt örneği, İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği, P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği

^{A,B,C} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

Enterik faz II'de ise depolama boyunca canlı *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* miktarı 2.00- 4.27 log kob/g arasında değişmiştir (Çizelge 4.21, Şekil 4.20). En yüksek değer 1. gün tüm fazlarda olduğu gibi Hi-maize ilaveli örnekte görülürken, en düşük sayım 28. gün de inulin ve polidekstroz ilaveli örnekte görülmüştür. Depo boyunca tüm örnekler incelendiğinde enterik faz II'deki *B.animalis* canlılığı ürünlerde giderek azalma göstermiştir.



Şekil 4.20. Probiyotik fermente süt ürünlerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının (log kob/g) Enterik Faz II'de depolama süresince değişimi.

Çeşitli süt ürünleri üzerinde yapılan *in vitro* gastrointestinal sindirim koşullarındaki bakteri canlılığının belirlendiği çalışmalar incelendiğinde elde edilen sayımların her bir depo günü için ayrı ayrı değerlendirildiği görülmektedir. Tezin bu bölümünde yorumlandığı gibi her bir gastrointestinal fazın depo boyunca gözlenen değişimi ile ilgili çalışma sonucu bulunmadığından dolayı bu bölümde herhangi bir diğer çalışma ile kıyaslama veya tartışma yapılamamıştır.

4.6 Fermente Sütlerin Duyusal Özellikleri

Duyusal değerlendirme; gıdanın çeşitli karakteristiklerini görme, koklama, tatma, dokunma veya işitme duyularının tepkilerini oluşturan, ölçen, analizleyen ve yorumlayan bir disiplin olarak tanımlanmaktadır. Duyusal değerlendirmenin ilkeleri ve uygulamaları söz konusu tepkilerin oluşturulması, ölçülmesi, analizi ve

sonuçların yorumlanması aktivitelerini içermektedir. Duyusal değerlendirmede elde edilen veriler ve istatistiksel sonuçlar hipotez ve önceki bilgi birikimine bağlı olarak yorumlanmalı, karar verilmeli ve önlem alınmalıdır (Onoğur ve Elmacı, 2011).

Çalışmamızda fermente süt ürünlerinin duyusal özellikleri 1., 7., 14., 21. ve 28. depolama günlerinde tat (1-5), aroma (1-5), görünüş (1-5), tekstür (1-5) ve toplam kabul edilebilirlik (1-5) açısından değerlendirilmiştir.

Genel olarak bakıldığında fermente süt ürünlerinin duyusal özelliklerine depolama süresinin etkisi önemli bulunmamış ($p>0.05$), ancak polidekstroz ilave edilen örneğin aroma, görünüş ve genel kabul edilebilirlik değerleri depolama sonunda önemli bir şekilde azalmıştır ($p<0.05$).

Polidekstroz ilave edilmiş fermente süt depolama sonundaki değerler göz önüne alındığında örnekler arasında en düşük duyusal puanlara sahiptir. İnülin veya Hi-maize dirençli nişasta eklenmesi, fermente süt örneklerinin duyusal özelliklerini 28 gün boyunca olumsuz bir şekilde etkilememiştir. Diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Staffolo et al., 2004; Kip et al., 2006; Rinaldoni et al., 2012).

4.6.1 Tat

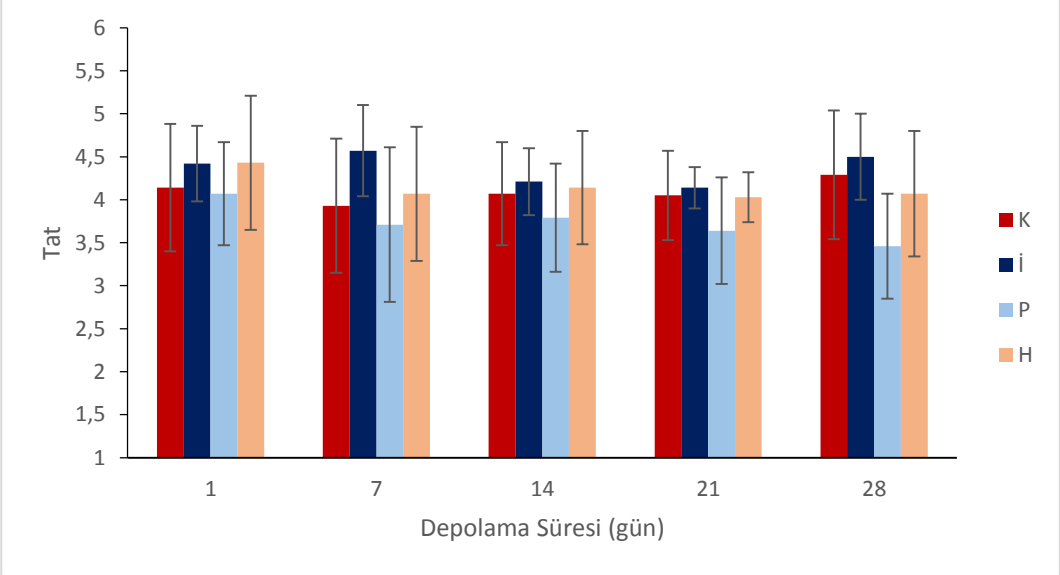
Yapılan çalışmamızda tat bakımından değerler 5 üzerinden 3.46-4.50 arasında değişiklik göstermiş olup Çizelge 4.22 ve Şekil 4.21'de belirtilmiştir. Ürünler arası farklılığa bakıldığında depolamanın 21 günü boyunca önemli bir fark bulunmamış ($p>0.05$) olup en düşük puanı polidekstroz ilaveli fermente süt ürünü almıştır. Bu durum polidekstrozun tatlılık vermeyen nötr bir tada sahip olmasına bağlanabilmektedir (do Carmo et al., 2016). Tüm fermente süt ürünleri çeşitlerinin tat özelliği için aldıkları puanlar depolama süresince önemli bir değişikliğe uğramamıştır ($p>0.05$).

Çizelge 4.22. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama süresince ortalama tat değerleri (n=3)

ÜRÜN	DEPOLAMA GÜNLERİ				
	1	7	14	21	28
K	4.14 ± 0.74^{Aa}	3.93 ± 0.78^{Aa}	4.07 ± 0.60^{Aa}	4.05 ± 0.52^{Aa}	4.29 ± 0.75^{Aa}
İ	4.42 ± 0.44^{Aa}	4.57 ± 0.53^{Aa}	4.21 ± 0.39^{Aa}	4.14 ± 0.24^{Aa}	4.50 ± 0.50^{Aa}
P	4.07 ± 0.60^{Aa}	3.71 ± 0.90^{Aa}	3.79 ± 0.63^{Aa}	3.64 ± 0.62^{Aa}	3.46 ± 0.61^{Ba}
H	4.43 ± 0.78^{Aa}	4.07 ± 0.78^{Aa}	4.14 ± 0.66^{Aa}	4.03 ± 0.29^{Aa}	4.07 ± 0.73^{ABa}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Srisuvor et al. (2013) inulin ve polidekstroz ilaveli set tipi yoğurtta yaptıkları duyusal testte görünüş, renk, tekstür, genel kabul edilebilirlik ve tat özelliklerini değerlendirmişlerdir. Genel olarak inulin ve polidekstroz ilavesinin yoğurdun çeşitli özelliklerini geliştirdiği belirlenmiştir. Söz konusu çalışmada inulin ve polidekstrozun eklenmesi görünüş, renk, tekstür ve toplam kabul edilebilirliğini önemli ölçüde etkilemiş ($p<0.05$) tadı ise önemli ölçüde etkilememiştir ($p>0.05$).



Şekil 4.21. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama süresince ortalama tat değerleri değişimi

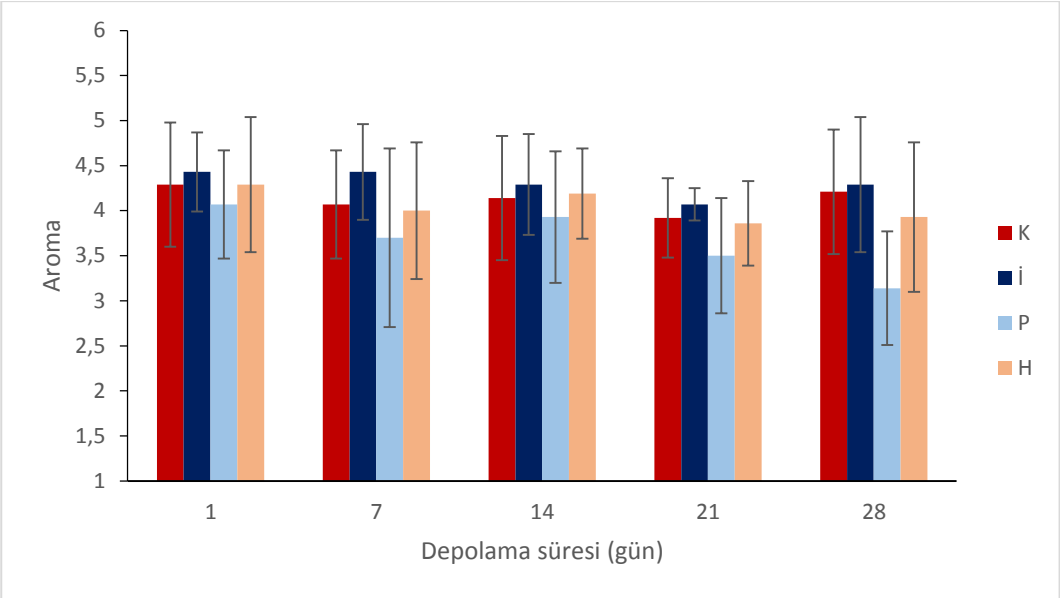
4.6.2 Aroma

Çalışmamızda panelistler tarafından aroma bakımından verilen değerler 5 üzerinden 3.14-4.43 arasında kalmıştır (Çizelge 4.23, Şekil 4.22). Kontrol, inulin, Hi-maize dirençli nişasta ilaveli örneklerin aroma değerlerinde 28 günlük depolama boyunca önemli bir değişiklik olmazken, P örneğinde depolama sonunda depolamanın ilk gününe kıyasla önemli derecede azalma meydana gelmiştir ($p<0.05$). Depolamanın ilk 14 gününde örnekler arasında aroma değerleri açısından herhangi bir farklılık belirlenmezken ($p>0.05$), 21. ve 28. günlerde en düşük puanlar polidekstroz ilaveli üründe saptanmıştır.

Çizelge 4.23. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama süresince ortalama aroma değerleri (n=3)

ÜRÜN	DEPOLAMA GÜNLERİ				
	1	7	14	21	28
K	4.29 ± 0.69^{Aa}	4.07 ± 0.60^{Aa}	4.14 ± 0.69^{Aa}	3.92 ± 0.44^{ABa}	4.21 ± 0.69^{Aa}
İ	4.43 ± 0.44^{Aa}	4.43 ± 0.53^{Aa}	4.29 ± 0.56^{Aa}	4.07 ± 0.18^{Aa}	4.29 ± 0.75^{Aa}
P	4.07 ± 0.60^{Aa}	3.70 ± 0.99^{Aab}	3.93 ± 0.73^{Aab}	3.50 ± 0.64^{Bab}	3.14 ± 0.63^{Bb}
H	4.29 ± 0.75^{Aa}	4.00 ± 0.76^{Aa}	4.19 ± 0.50^{Aa}	3.86 ± 0.47^{ABa}	3.93 ± 0.83^{ABa}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.22. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama süresince ortalama aroma değerleri değişimi.

Yapılan bazı çalışmalarda çalışmamıza benzer sonuçlar alınmıştır. Doğu Hindistan'ın popüler fermente süt içeceği olan *Misti dahi*'e polidekstroz ilavesinin aroma ve toplam kabul edilebilirlik puanlarını kontrol örneğine göre düşürdüğü Raju and Pal (2011) tarafından yapılan çalışmada belirlenmiştir.

Allgeyer et al. (2010), polidekstroz içeren probiyotik yoğurt içeceğinin aroma dahil tüm duyusal özelliklerinin kontrol grubuna kıyasla daha kötü olduğunu tespit etmişlerdir. Söz konusu araştırmacılar, polidekstroz ilave edilen içecekte tebeşirimsi ağız hissi belirlemiş olup kontrol örneğine göre daha az yoğun olan tatlılık saptamışlardır.

4.6.3 Görünüş

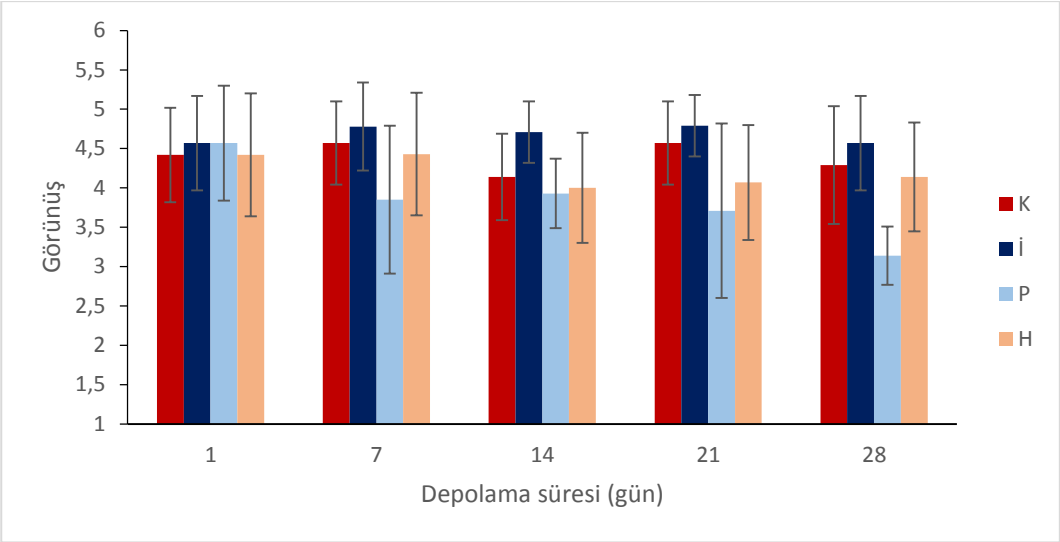
Görünüş, bir gıdanın tüketici tarafından değerlendirilmesinde ilk etkiyi oluşturan ve bir ürünü satın alma, hazırlama ve/veya tüketme kararını etkileyen en önemli duyusal kalite özelliğidir (Onoğur ve Elmacı, 2011).

Çizelge 4.24. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama süresince ortalama görünüş değerleri (n=3)

ÜRÜN	DEPOLAMA GÜNLERİ				
	1	7	14	21	28
K	4.42 ± 0.60^{Aa}	4.57 ± 0.53^{ABa}	4.14 ± 0.55^{ABa}	4.57 ± 0.53^{ABa}	4.29 ± 0.75^{Aa}
İ	4.57 ± 0.60^{Aa}	4.78 ± 0.56^{Aa}	4.71 ± 0.39^{Aa}	4.79 ± 0.39^{Aa}	4.57 ± 0.60^{Aa}
P	4.57 ± 0.73^{Aa}	3.85 ± 0.94^{Bab}	3.93 ± 0.44^{Bab}	3.71 ± 1.11^{Bab}	3.14 ± 0.37^{Bb}
H	4.42 ± 0.78^{Aa}	4.43 ± 0.78^{ABa}	4.00 ± 0.70^{Ba}	4.07 ± 0.73^{ABa}	4.14 ± 0.69^{Aa}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Çalışmamızda fermente süt ürünlerinin görünüş bakımından aldığı puanlar 3.14-4.79 arasında değişmiştir (Çizelge 4.24, Şekil 4.23). Depolamanın 1. gününde ürünlerin görünüş açısından aldığı puanlar arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık bulunmazken, 7., 14., 21. ve 28. günlerde en düşük görünüş değeri polidekstroz ilaveli üründe saptanmıştır. Kontrol örneği ile inulin ve Hi-maize ilave edilen femente sütlerde görünüş puanları depolama süresince önemli derecede değişmezken ($p> 0.05$), polidekstroz ilaveli örneğin görünüş puanlarında aroma özelliğinde olduğu gibi 28. günde depolamanın başına göre önemli bir azalma meydana gelmiştir.



Şekil 4.23. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama süresince ortalama görünüş değerleri değişimi.

Depo boyunca en düşük görünüş değerlerinin polidekstroz ilave edilen fermente süt ürününde tespit edilmesi polidekstozun suda yüksek çözünürlüğünden dolayı ve böylece viskoz olmayan bir çözelti meydana getirmesine bağlanabilmektedir (do Carmo et al., 2016).

4.6.4 Tekstür

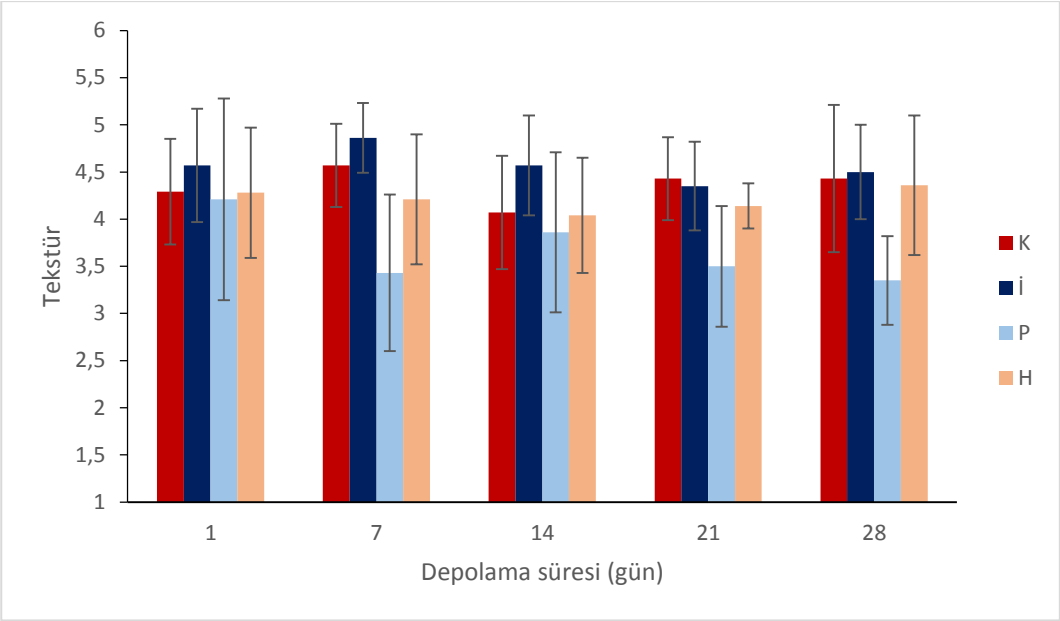
Fermente süt ürünlerinin tekstür özelliğine verilen değerler Çizelge 4.25 ve Şekil 4.24'de verilmiştir. Değerlerin 3.35-4.86 arasında değiştiği saptanmıştır. Depolamanın 7., 21. ve 28. günlerinde en düşük tekstür puanlarını P örneği almıştır. Depolamanın diğer günlerinde ise ürünler arasında önemli bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Fermente süt ürünlerinin tekstür puanlarına deponun istatistiksel anlamda bir etkisinin olmadığı da görülmektedir ($p>0.05$).

Çizelge 4.25. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama süresince ortalama tekstür değerleri (n=3)

ÜRÜN	DEPOLAMA GÜNLERİ				
	1	7	14	21	28
K	4.29±0.56^{Aa}	4.57±0.44^{Aa}	4.07±0.60^{Aa}	4.43±0.44^{Aa}	4.43±0.78^{Aa}
İ	4.57±0.60^{Aa}	4.86±0.37^{Aa}	4.57±0.53^{Aa}	4.35±0.47^{Aa}	4.50±0.50^{Aa}
P	4.21±1.07^{Aa}	3.43±0.83^{Ba}	3.86±0.85^{Aa}	3.50±0.64^{Ba}	3.35±0.47^{Ba}
H	4.28±0.69^{Aa}	4.21±0.69^{Aa}	4.04±0.61^{Aa}	4.14±0.24^{Aa}	4.36±0.74^{Aa}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Güven vd. (2005) az yağlı yoğurtta farklı konsantrasyonlarda inulin ilavesinin tat ve tekstüre olan etkisini incelemişlerdir. % 1 inulin ilaveli az yağlı yoğurt örneği ile kontrol yoğurdu arasında tat ve tekstür açısından önemli bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). % 6 oranında inulin ilave edilen yoğurt ile kontrol yoğurdu kıyaslandığında ise inulin ilavesinin tat ve tekstürü iyileştirdiği belirtilmiştir. Çalışma sonucunda tam yağlı yoğurtta yakın değerler elde etmek için az yağlı yoğurda ilave edilmesi gereken ideal inulin oranının % 2'nin üzerinde olması gerektiği vurgulanmıştır.



Şekil 4.24. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama süresince ortalama tekstür değerleri değişimi.

4.6.5 Toplam kabul edilebilirlik

Yapılan çalışmamızda toplam kabul edilebilirlik bakımından ürünlere ait değerler 3.25-4.71 arasında değişmiş olup Çizelge 4.26 ve Şekil 4.25'de gösterilmiştir. Ürünlerin toplam kabul edilebilir puanları incelendiğinde depolamanın 1. ve 14. gününde ürünler arası önemli bir farka rastlanmamıştır ($p>0.05$). Diğer depo günlerinde ise toplam kabul edilebilirlik açısından en az beğenilen ürün polidekstroz ilaveli fermente süt ürünü olmuştur. Depolamanın 21. ve 28. günlerinde ise inulin ve Hi-maize dirençli nişasta ilave edilen örnekler panelistler tarafından kontrol örneği kadar beğeni almıştır.

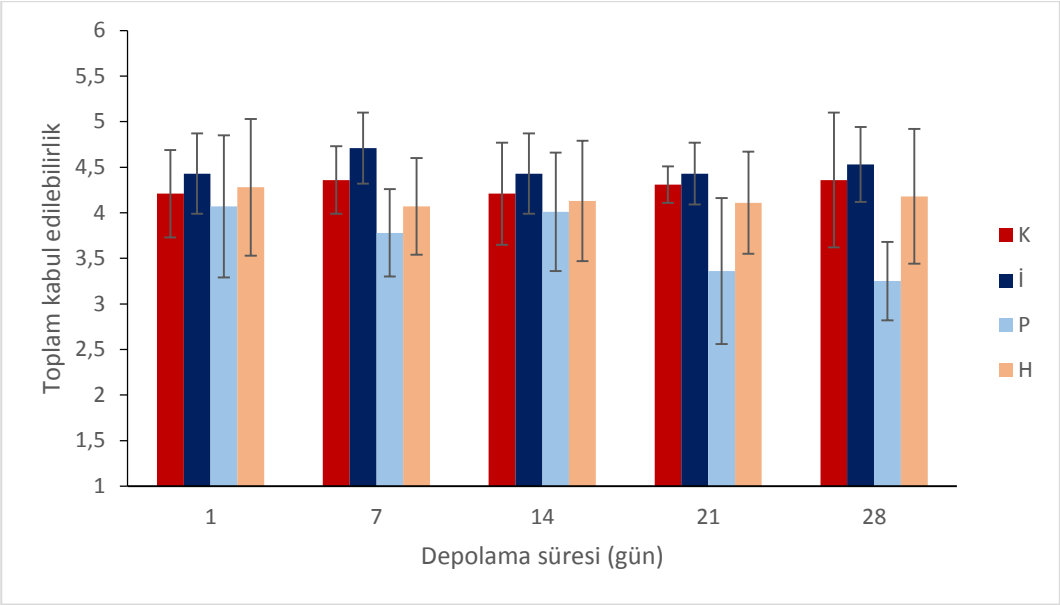
Çizelge 4.26. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama süresince ortalama toplam kabul edilebilirlik değerleri (n=3)

ÜRÜN	DEPOLAMA GÜNLERİ				
	1	7	14	21	28
K	4.21 ± 0.48^{Aa}	4.36 ± 0.37^{ABa}	4.21 ± 0.56^{Aa}	4.31 ± 0.22^{Aa}	4.36 ± 0.74^{Aa}
İ	4.43 ± 0.44^{Aa}	4.71 ± 0.39^{Aa}	4.43 ± 0.44^{Aa}	4.43 ± 0.34^{Aa}	4.53 ± 0.41^{Aa}
P	4.07 ± 0.78^{Aa}	3.78 ± 0.48^{Cab}	4.01 ± 0.65^{Aab}	3.36 ± 0.80^{Bab}	3.25 ± 0.43^{Bb}
H	4.28 ± 0.75^{Aa}	4.07 ± 0.53^{BCa}	4.13 ± 0.66^{Aa}	4.11 ± 0.56^{Aa}	4.18 ± 0.74^{Aa}

K: Kontrol fermente süt örneği (Prebiyotik ilavesiz), İ: İnulin ilaveli fermente süt örneği,
P: Polidekstroz ilaveli fermente süt örneği, H: Hi-maize ilaveli fermente süt örneği
^{A,B,C} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{a,b} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

K, İ ve H örneklerinin toplam kabul edilebilirlik değerleri depo süresince değişmezken ($p>0.05$), polidekstroz ilaveli ürün görünüş ve aroma özelliklerinde olduğu gibi depolamanın sonunda 1. güne nazaran önemli derecede düşük puanlar almıştır.

Allgeyer et al. (2010) *Lactobacillus bulgaricus* ve *Bifidobacterium lactis* bakterilerini içeren yoğurt üzerinde yaptıkları çalışmada inulin ilavesinin ürünün duyusal özelliklerini etkilemediğini; inulin veya polidekstroz ilavesinin ise ürüne orta derecede bir tatlılık kazandırdığını bildirmişlerdir.



Şekil 4.25. Probiyotik fermente süt ürünlerinin depolama süresince ortalama toplam kabul edilebilirlik değerleri değişimi.

5. SONUÇ

Çalışmamızda *Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* ve *Lactobacillus acidophilus* içeren fermente sütlere çeşitli prebiyotikler ilave edilerek (inulin, polidekstroz ve Hi-maize) üretilen fermente sütler 28 günlük depolama boyunca kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal özellikleri incelenmiş olup bunun yanında probiyotik bakterilerin simüle *in vitro* gastrointestinal sindirim koşulları altındaki canlılıkları araştırılmıştır.

Fermente sütlerde depolama boyunca pH değeri kontrol örneği, inulin, Hi-maize dirençli nişasta ilaveli örneklerde önce azalma daha sonra artma, polidekstroz ilaveli örnekte ise depo boyunca azalma göstermiştir. Depolamanın 21. günü dışındaki tüm günlerde kontrol örneği en düşük pH değerine sahipken, en yüksek pH değerleri polidekstroz ilaveli fermente süt ürününde saptanmıştır. % laktik asit miktarlarında ise depolama süresince tüm örneklerde dalgalanmalar olduğu tespit edilmiş olup, ürünler arası % laktik asit değerindeki fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Fermente süt ürünlerindeki bakteri canlılığı incelendiğinde, *S.thermophilus* populasyonunun depolama süresince 8 log kob/g'ın üzerinde kaldığı görülmektedir. Diğer yandan, probiyotik bakteriler olan *L.acidophilus* ve *B.animalis* subsp. *lactis* değerlerinin 28 gün boyunca sağlık faydası gösterebilmeleri için minimum efektif doz olan 10^6-10^8 kob/g arasında değiştiği gözlenmiştir. *S.thermophilus* miktarı en yüksek 1. ve 28. depo gününde kontrol örneğinde, 14. gün polidekstroz ilaveli örnekte bulunmuştur. Ürünlerdeki canlı *L.acidophilus* sayısı 28 günlük depo boyunca dalgalanma göstermiş olup prebiyotik ilavesinin *L.acidophilus* canlılığını kontrol örneğine göre önemli derecede arttırmadığı belirlenmiştir. Çalışmamızda üretilen fermente sütlerin içerdiği en yüksek *B.animalis* sayısı 1. ve 14. günlerde kontrol örneğinde, 28. günde ise Hi- maize dirençli nişasta ilave edilen örnekte tespit edilmiştir.

Çalışmada uygulanan *in vitro* gastrointestinal sindirim koşulları sonrası yapılan mikrobiyolojik ekim sonuçları incelendiğinde her iki probiyotik bakterinin de söz konusu koşullardan etkilendiği görülmektedir. *L.acidophilus*'un mide

koşullarına oldukça hassas olduğu ve tüm ürünlerde depolama boyunca canlılığının 2-3 logaritma seviyesinde azalma gösterdiği belirlenmiştir. Canlı *L.acidophilus* sayısının enterik fazlarda ise gastrik faz koşullarına nazaran daha az oranda azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Depolamanın 1. günü gastrik faz sonrası en yüksek *L.acidophilus* sayısı H örneğinde tespit edilirken, enterik faz I sonrası örnekler arası istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır. Enterik faz II sonrası ise en düşük sayım kontrol örneğinde saptanırken prebiyotik ilaveli örnekler arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). 14. ve 28. günlerde ise gastrik ve enterik faz I sonrası en yüksek sayımlar K ve İ örneğinde tespit edilirken, enterik faz II sonrası örnekler arası herhangi bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Simüle *in vitro* gastrointestinal koşullar uygulanan fermente süt ürünlerinde *B.animalis*'in *L.acidophilus*'a kıyasla populasyon olarak yüksek olduğu, ayrıca özellikle gastrik faz koşullarına daha dayanıklı olduğu gözlenmiştir. Depolamanın 1. gününde *B.animalis* sayısında enterik faz II dışındaki fazlarda örnekler arası farklılık bulunmamıştır. Hi-maize ilavesinin uygulanan *in vitro* deneyin 6 saati sonunda *B.animalis* canlılığı açısından koruma sağladığı görülmektedir.

Hi-maize ilavesinin *B.animalis* canlılığı üzerindeki olumlu etkisi 14. ve 28. günde de devam etmiştir. Ancak söz konusu etkinin görüldüğü en etkin aşamanın enterik faz II olduğu söylenebilmektedir.

Duyusal değerlendirmede ise ''tat, aroma, görünüş, tekstür ve toplam kabul edilebilirlik'' yönünden bakıldığında depolama süresinin ürünlerin beğenilme derecelerini önemli derecede etkilemediği görülmektedir. Kontrol örneği ile polidekstroz ilave edilen fermente süt ürünleri kıyaslandığında polidekstroz ilavesinin ürünün duyusal özelliklerini olumsuz etkilediği söylenebilir. İnulin ve Hi-maize ilave edilen fermente süt ürünleri ise en az kontrol örneği kadar panelistler tarafından beğenilmiştir.

Sonuç olarak;

-Prebiyotik ilavesi ABT- fermente süt ürünündeki *L.acidophilus* La-5 ve *B.animalis* Bb-12 canlılığı üzerinde çok fazla etkili olmasa da söz konusu canlı probiyotik bakteri sayıları 28 günlük depolama boyunca 6-8 log kob/g arasında değişiklik göstermiştir.

-*B.animalis* Bb-12 suşunun simüle gastrointestinal koşullara *L.acidophilus* La-5 suşuna göre daha dirençli olduğu depolama süresince gözlenmiştir.

-Depolamanın 14. ve 28. günlerinde inulin ilave edilen örnekte gastrik ve enterik faz I'deki *L.acidophilus* sayısını diğer prebiyotik ilaveli ürünlere göre daha yüksek bulunsa da deney sonunda örnekler arasındaki fark önemsiz bulunmuştur.

-ABT-fermente sütte Hi-maize ilavesinin *in vitro* gastrointestinal koşullar altında *B.animalis* Bb-12 canlılığını geliştirdiği açıkça görülmektedir.

-ABT-fermente sütünün inulin veya Hi-maize tarafından zenginleştirilmesinin duyusal karakteristikler üzerinde istatistiksel anlamda herhangi bir etkisi bulunmazken, polidekstroz ilavesi söz konusu özellikleri olumsuz yönde etkilemiştir.

Bundan dolayı, çalışmamızda elde ettiğimiz veriler probiyotik suşların gastrointestinal toleranslarının ve duyusal özelliklerinin uygun bir prebiyotik seçimi ile iyileştirilebileceğini göstermektedir. Bu durum, hem probiyotik mikroorganzimaların konakçıya sağlayacağı sağlık faydalarını arttıracak hem de gelecekte fonksiyonel gıda biliminin gelişmesi açısından yeni bir strateji oluşturacaktır. Bunun yanında, bu çalışmada uygulanan *in vitro* yöntemlerin yapılacak klinik çalışmalar ile de desteklenmesine gereksinim vardır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Abrams, S. A., Griffin, I. J., Hawthorne, K. M., Liang, L., Gunn, S. K., Darlington, G., et al., 2005, A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *American Journal of Clinical Nutrition*, 82(2), 471–476.

Adams, C.A., 2010, The probiotic paradox: live and dead cells are biological response modifiers. *Nutrition Research Reviews*, 23:37-46.

Agrawal, R., 2009, Probiotics: An Emerging Food Supplement with Health Benefits, *Food Biotechnology*, 19:227-246.

Akalın, A.S. and G. Ünal., 2010, The influence of milk supplementation on the microbiological stability and textural characteristics of fermented milk. *Milchwissenschaft*, 65 (3):291-294.

Akalın, A.S., Gönç, S., Ünal, G. and Fenderya, S., 2007, Effect of Fructooligosaccharide and Whey Protein Concentrate on the Viability of Starter Culture in Reduced-Fat Probiotic Yogurt during Storage, *Journal of Food Science*, 72(7): M222-M227.

Allgeyer, L.C., Miller, M.J. and Lee, S.Y., 2009, Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. *Journal of Dairy Science*, 93:4471-4479.

Allgeyer, L.C., Miller, M.J. and Lee, S.-Y., 2010, ‘‘Drivers of liking for yoghurt drinks with prebiotics and probiotics’’ *Journal of Food Science*, Vol. 75 No. 4, 212-219pp.

Anonim, 1989, TSE 1330, Yoğurt Standardı, TSE, Ankara.

Anonim, 2000a, 14.02.2000 Tarih ve 23964 nolu *Türk Gıda Kodeksi*-Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği (Tebliğ No: 2000-6)

Anonim, 2000b, 22.08.2006 Tarih ve 26267 nolu *Türk Gıda Kodeksi*-Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği’nde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ. (Tebliğ No: 2000-6)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Anonim, 2009, Iran National Standard For Probiotic Yoghurt, No. 11325. 2009. (In Persian) www.isiri.org.).

Anonim, 2009, Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, Tebliğ No:2009/25.

AOAC., 1997, Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

Aryana, K.J., Plauche, S., Rao, R.M., McGrew, P. and Shah, N.P., 2007, Effects of β- glucan Addition Containing Yoghurt, *Food and Chemical Toxicology*, 72:405-411.

Bedani, R., Rossi, E.A. and Saad, S.M.I., 2013, Impact of inulin and okara on *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 viability in a fermented soy product and probiotic survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. *Food Microbiology*, 34:382-389.

Bedani, R., Vieira, A.D.S., Rossi, E.A. and Saad, S.M.I., 2014, Tropical fruit pulps decreased probiotic survival to *in vitro* gastrointestinal stress in synbiotic soy yoghurt with okara during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 55:436-443.

Begley, M., Gahan, C.G.M. and Hill, C., 2005, The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 625-651.

Boler, B. M.V., Serao , M.C.R., Bauer, L.L., Staeger, M.A., Boileau, T.W., Swanson, K.S. and Fahey, G.C., 2011, Jr. Digestive physiological outcomes related to polydextrose and soluble maize fibre consumption by healthy adult men. *British Journal of* Nutrition, 106, 1864-1871.

Bornet, F.R.J., 2008, Fructo-oligosaccharides and other fructans: chemistry, structure and nutritional effects. Advanced Dietary Fibre Technology, Blackwell Science Ltd. 480-493pp.

Buriti, F.C.A., Castro, I.A. and Saad, S.M.I., 2010, Viability of *Lactobacillus acidophilus* in symbiotic guava mousses and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 137:121-129.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Candy, D.C.A., Heath, S.J., Lewis, J.D.N. and Thomas, L.V., 2008, Probiotics for the young and the not so young. *International Journal of Dairy Technology*,61(3):215-221.

Casarotti, S.N. and Penna, A.L.B., 2015a, Acidification profile, probiotic in vitro gastrointestinal tolerance and viability in fermented milk with fruit flours. *International Dairy Journal*, 41:1-6.

Casarotti, S.N., Carneiro, B.M. and Penna, A.L.B., 2014b. Evaluation of the effect of supplementing fermented milk with quinoa flour on probiotic activity. *Journal of Dairy Science*, 97:6027-6035.

Casarotti, S.N., Monteiro, D.A., Moretti, M.M.S. and Penna, A.L.B., 2014a. Influence of the combination of probiotic cultures during fermentation and storage of fermented milk. *Food Research International*, 59:67-75.

Casarotti, S.N., Todorov, S.D. and Penna, A.L.B., 2015b. Effect of different matrices on probiotic resistance to in vitro simulated gastrointestinal conditions. *International Journal of Dairy Technology*, 68(4):595-601.

Collado, M.C. and Sanz, Y., 2007, Induction of acid resistance in Bifidobacterium: a mechanism for improving desirable traits of potentially probiotic strains. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 1147-1157.

Coussement, P.A., 1999, Inulin and oligosaccharides: safe intakes and legal status, *The Journal of Nutrition*, Vol. 129 No.7 pp. 1412-1417

Craig, S.A.S., Holden, J.F., Troup, J.P., Auerbach, M.H. and Frier, H.I., 1999, Polydextrose as Soluble Fiber and Complex Carbohydrate. In: Cho, S.S; Prosky, L.; Dreher, M. (Eds.); Complex Carbohydrate in Foods: Marcel Dekker, New York. chap. 18.

Crittenden, R.G., Morris, L.F., Harvey, M.L., Tran, L.T., Mitchell, H.L. and Playne, M.J., 2001, Selection of a Bifidobacterium strain to complement resistant starch in a symbiotic yoghurt. *Journal of Applied Microbiology*, 90:268-278.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

De Araujo Etchepare, M., Raddatz, G.C., Cichoski, A.J., Flores, E.M.M., Barin, J.S., Zepka, L.Q., Jacob-Lopes, E., Grosso, C.R.F. and de Menezes, C.R., 2016, Effect of resistant starch (Hi-maize) on the survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. *Journal of Functional Foods*, 21: 321-329.

De Souza Oliveira, R.P., Perego, P., de Oliveira, M.N. and Converti, A., 2011a, Effect of inulin as prebiotic and symbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness. *Journal of Food Engineering*, 107:36-40.

De Souza Oliveira, R.P., Perego, P., de Oliveira, M.N. and Converti, A., 2011b, Effect of inulin as prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk. *LWT- Food Science and Technology*, 44:520-523.

Desai, A.R., Powell, L.B. and Shah, N.P., 2004, Survival and Activity of Probiotic Lactobacilli in Skim Milk Containing Prebiotics, *Journal Food Science*, 69(3):M57-M60.

Do Carmo, M.M.R., Walker, J.C.L., Novello, D., Caselato, V., Sgarbieri, V.C., Ouwehand, A.C., Andreollo, N.A., Hiane, P.A. and dos Santos, E.F., 2016, Polydextrose: Physiological Function, and Effects on Health. *Nutrients*, 8(553):1-13.

Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T. and Shah, N.P., 2007, Galactosidase and proteolytic activities of selected probiotic and dairy cultures in fermented soymilk. *Food Chemistry*, 104, 10-20.

FAO/WHO, 2002, Guidelines for the evaluation of probiotics in food: Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, ON, Canada: FAO/WHO.

Faye, T., Tamburello, A., Vegarud, G.E. and Skeie, S., 2012, Survival of Lactic Acid Bacteria from Fermented Milks in an *in vitro* Digestion Model Expoliting Sequential Incubation in Human Gastric and Duodenum Juice, *Journal of Dairy Science*, 95 (2):558-566.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Figueora-Gonzàlez, I., Quijano, G., Ramirez, G. and Cruz Guerrrero, A., 2011, Probiotics and Prebiotics-Perspectives and Challenges, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91:1341-1348.

Flood, M.T., Auerbach, M.H. and Craig, S.A.S., 2004, A review of the clinical toleration studies of polydextrose in food. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 1531-1542.

Fuentes-Zaragoza, E., Sánchez-Zapata, E., Sendra, E., Sayas, E., Navarro, C., Fernández-Lopez, J. and Pérez-Alvarez, J.A., 2011, Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch/Stärke*, 63:406-415.

Fuller, R., 1989, Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 365-378.

Fung, W.Y., Woo, Y.P., Wan-Abdullah, W.N., Ahmad, R., Easa, A.M. and Liong, M.T., 2009, Benefits of Probiotics: Beyond Gastrointestinal Health. *Milchwissenschaft*, 64:17-20.

Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B., 1995, Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal Nutrient*, 125, 1401-1412.

Gibson, G.R., Probert, H.M., Loo, J.V., Rastall, R.A. and Roberfroid, M.B., 2004, Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17, 259.

González-Herrera, S.M.G., Herrera, R.R., Lopez, M.G., Rutiaga, O.M., Aguilar, C.N., Esquivel, J.C.C. and Martinéz, L.A.O., 2015, Inulin in food products: prebiotic and functional ingredient. *British Food Journal*, 117(1):371-387.

Gopal, P.K., Sullivan, P.A. and Smart, J.B., 2001, Utilisation of Galactooligosaccharides as Selective Substrates for Growth by Lactic Acid Bacteria Including *Bifidobacterium lactis* DR10 and *Lactobacillus rhamnosus DR20, International Dairy Journal*, 11:19-25.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Guggisberg, D., Cuthbert-Steven, J., Piccinali, P., Bütikofer, U. and Eberhard, P., 2009, Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yoghurt as influenced by inulin addition. *International Dairy Journal*, 19:107-115.

Güven, M., Yasar, K., Karaca, O.B., and Hayaloglu, A.A., 2005, The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yoghurt manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, 58,180e184.

Hamburger, Z.A., Brown, M.S., Isberg, R.R. and Bjorkman, P.J., 1999, Crystal structure of invasin: a bacterial integrin- binding protein. *Science*, 286,291-295.

Helland, M.H., Wicklund, T. and Narvhus, J.A., 2004, Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk- and water-based cereal puddings. *International Dairy Journal*, 14:957-965.

Hernandez-Hernandez, O., Muthaiyan, A., Moreno, F.J., Montilla, A., Sanz, M.L. and Ricke, S.C., 2012, Effect of prebiotic carbohydrates on the growth and tolerance of Lactobacillus. *Food Microbiology*, 30:355-361.

Heydari, S., Mortazavian, A.M., Ehsani, M.R., Mohammadifar, M.A. and Ezzatpanah, H., 2011, Biochemical, Microbiological and Sensory Characteristics of Probiotic Yogurt Containing Various Prebiotic Compounds. *Italian Journal of Food Science*, 23:153-163.

Holscher, H.D., Coporaso, J.G., Hooda, S., Brulc, J.M., Fahey, G.C., Jr. and Swanson, K.S., 2015, 101, 55-64. Fiber supplementation influences phylogenetic structure and functional capacity of the human intestinal microbiome: Follow-up of a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition.*

Huang, H.Y., Hsieh, H.Y., King, V.A.E., Chi, L.L. and Tsen, J.H., 2014, To pre-challenge lactic acid bacteria with simulated gastrointestinal conditions is a suitable approach to studying potential probiotic properties. *Journal of Microbiological Methods*, 107:138-146.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Hur, S.J., Lim, B.O., Decker, E.A. and McClements, D.J., 2011, *In vitro* Human Digestion Models for Food Applications, *Food Chemistry*, 125:1-12.

Joint Expert Committee on Food Additives JECFA., 2015, Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. Thirty-First Report of the Joint FAO / WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization Technical Report Series 759; Geneva. Avaible online: http // www.apps.who.int/iris/bitstream/10665/42849/1/WHO_TRS_922.pdf

Kip, P., Meyer, D. and Jellema, R.H., 2006, Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurt. *International Dairy Journal, 16,* 1098-1103.

Korbehandi, H., Mortazavian, A.M. and Iravani, S., 2011, Technology and Stability of Probiotic in Fermented Milks. In *Probiotic and Prebiotic* Foods: Technology, Stability and Benefits to the Human Health, Shah,N., Cruz,A.G., Faria,J.A.F., Eds.,Nova Science publishers, New York , In press.

Lahtinen, S.J., Knoblock, K., Drakoularakou, A., Jacop, M., Stowell, J., Gibson, G.R. and Ouwehand, A.C., 2010, Effect of molecule branching and glycosidic linkage on the degradation of polydextrose by gut microbiota. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 74, 2016-2021.

Lamsal, B.P. and Faubion, J.M., 2009, The Beneficial Use of Cereal and Cereal Components in Probiotic Foods, *Food Reviews International*, 25:103-114.

Liserre, A.M., Re, M.I. and Franco, B.D.G.M., 2007, Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* in modified alginate-chitosan beads and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions. *Food Biotechnology*, 21:1-16.

Macfarlane, S., Macfarlane, G.T. and Cummings J.H., 2006, Review article: prebiotics in the gastrointestinal tract. *Alim Pharmacol Therapeut,* 24: 701-714.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Madureira, A.R.M., Amorim, M., Gomes, A.M., Pintado, M.E. and Malcata, F.X., 2011, Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 44:465-470.

Magro, D.O., de Oliveira, L.M.R., Bernasconi, I., Ruela, M.S., Credidio, L., Barcelos, I.K., Leal, R.F., Ayrizono, M.L.S., Fagundes, J.J., Teixeira, L.B., Ouwehand, A.C. and Coy, C.S.R., 2014, Effect of Yogurt Containing Polydextrose, *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* HN019: a Randomized, Double-Blind, Controlled Study in Chronic Constipation, *Nutrition Journal*, 13:75-79.

Mäkeläinen, H.S., Saarinen, M., Stowell, J., Rautonen, N. and Ouwehand, A.C., 2010. Xylo-oligosaccharides and lactitol promote the growth of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus* species in pure cultures, *Beneficial Microbes*, 1, 139-148.

Mariya, J., Fachin, L., Gandara, A.L.N. and Viotto, W.H., 2006, Evaluation of Culture Media for Counts of *Bifidobacterium animalis* in the Presence of Yoghurt Bacteria, *Brazilian Journal of Microbiology*, 37:516-520.

Martín-Diana, A. B., C. Janer, C. Peláez, and T. Requena., 2003, Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 13:827–833.

Martínez–Villaluenga, C., Frías, J., Gómez, R. and Vidal-Valverde, C., 2006, Influence of Addition of Raffinose Family Oligosaccharides on Probiotic Survival in Fermented Milk during Refrigerated Storage, *International Dairy Journal*, 16:768-774.

Matias, N.S., Padilha, M., Bedani, R. and Saad, S.M.I., 2016, *In vitro* gastrointestinal resistance *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 in soy and/or milk based symbiotic apple ice creams. *International Journal of Food Microbiology*, 234:83-93.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

McClements, D.J., Decker, E.A. and Park, Y., 2009, Controlling lipid bioavailability through physicochemical and structural approaches, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49:48-67.

McFarland, L.V., Elmer , G.W., 2006, Properties of Evidence –Based Probiotics for Human Health. In *Probiotic in Food Safety and Human Health*, 109-138

Metin, M., 2012, Süt Teknolojisi, Sütün Bileşimi ve İşlenmesi, Ege Üniversitesi Rektörlük Yayınları No:8, İzmir.

Mohammadi, R. and Mortazavian, A.M., 2011, Review Article: Technological aspects of prebiotics in probiotic fermented milks. *Food Reviews International*, 27:192-212.

Morelli, L., 2000, *In vitro* selection of probiotic Lactobacilli: a critical appraisal. *Current Issues ın Intestinal Microbiology*, 1, 59-67.

Mortazavian, A.M. and Sohrabvandi, S., 2006, Probiotics and Food Probiotic Products; Based on Dairy Probiotic Products; Eta Publication: Tehran,Iran,650.

Mortazavian, A.M., Khosrokhvar, R., Rastegar, H. and Mortazaei,G.R., 2010, Effects of Dry Matter Standardization Order on Biochemical and Microbiological Characteristics of Freshly Made Probiotic Doogh, *Italian Journal Food Science*, 22:98-102.

Mortazavian, A.M., Mohammadi, R., Cruz, A.G. and Faria, J.A.F., 2011, Technology and Stability of Probiotics in Dairy Desserts. In *Probiotic and Prebiotic Foods: Technology, Stability and Benefits to the human health ;* Shah, N., Cruz, A.G., Faria, J.A.F., Eds.; Nova Science Publishers, New York, 2011; In press.

Nazzaro, F., Fratianni, F., Nicolaus, B., Poli, A. and Orlando, P., 2012, The prebiotic source influences the growth, biochemical features and survival under simulated gastrointestinal conditions of the probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *Anaerobe*, 18:280-285.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Noubakhti, A.R., Ehsani, M.R., Mousavi, S.M. and Mortazavian, A.M., 2009, Influence of lactulose and Hi-maize addition on viability of probiotic microorganisms in freshly made symbiotic fermented milk drink. *Milchwissenschaft*, 64(2): 191-193.

Nugent AP., 2005, Health properties of resistant starch. *Nutrition Bulletin*, 30, 27–54.

Oliveira, R.P.S., Florence, A.C.R., Silva, R.C., Perego, P., Converti, A., Gioielli, L.A. and Oliveira, M.N., 2009, Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. *International Journal of Food Microbiology*, 128:467-472.

Oliveira, R.P.S., Perego, P., Oliveira, M.N. and Converti, A., 2011, Effect of Inulin as Prebiotic to Improve Growth and Counts of a Probiotic Cocktail in Fermented Skim Milk, *LWT- Food Science and Technology*, 44(2):520-523.

Onoğur, T.A, ve Elmacı, Y., 2011, Gıdalarda Duyusal Değerlendirme, Sidas Basım, İzmir

Oysun, G., 1991, Süt Ürünleri Analiz Yöntemleri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 504, İzmir, 230s.

Özer, D., Akin, S. and Özer, B., 2005, Effect of inulin and lactulose on survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* Bb-12 in acidophilus-bifidus yoghurt. *Food Science Technology International*, 11:19-24.

Padilha, M., Morales, M.L.V., Vieira, A.D.S., Costa, M.G.M.C. and Saad, S.M.I., 2016, prebiotic mixture improved *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* gastrointestinal *in vitro* resistance in petit-suisse. *Food & Function* 7:2312-2319.

Propert, H.M., Apajalahti, J.H., Rautonen, N., Stowell, J. and Gibson, G.R., 2004, Polydextrose, lactiol, and fructo-oligosaccharide fermentation by colonic bacteria in a three-stage continuous culture system. *Applied and Enviromental Microbiology*, 70, 4505-4511.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Raju, P.N. and Pal, D., 2011, Effect of bulking agents on the quality of artificially sweetened misti dahi (caramel colored sweetened yoghurt) prepared from reduced fat buffalo milk. *LWT-Food Science and Technology*, 44:1835-1843.

Ranadheera, C.S., Evans, C.A. and Adams, M.C., 2014, Effect of dairy probiotic combinations on *in vitro* gastrointestinal tolerance, intestinal epithelial cell adhesion and cytokine secretion. *Journal of Functional Foods*, 8:18-25.

Ranadheera, C.S., Evans, C.A., Adams, M.C. and Baines, S.K., 2012, In vitro analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt. *Food Research International*, 49:619-625.

Renner, E., 1993, Milchpractikum. Justus-Liebig-Universität, Giessen, Germany.

Rinaldoni, A.N., Campderros, M.E. and Padilla, A.P., 2012, Physico-chemical and sensory properties of yogurt from ultrafiltered soy milk concentrate added with inulin. *LWT-Food Science and Technology*, 45:142-147.

Roberfroid, M.B., 2007a, Prebiotics: the concept revisited. *Journal of Nutrition* , *137*: 830-837.

Roberfroid, M., Gibson, G.R., Hoyles, L., McCarthet, A.L., Rastall, R., Rowland, I., Wolvers, D., Watzl, B., Szajewska, H., Sthal, B., et al., 2010, Prebiotic effects: Metabolic and health benefits. *British Journal Nutrition*, 104, 1-63.

Roberfroid, M., Hoyles, L., Mccartney A.L. et al., 2010, Prebiotic concept: definition, metabolic and health benefits. *British Journal Nutrition*, 104, 1-63.

Roberfroid, M.B., 2007b, Inulin type fructans: Functional Food İngredients. *The Journal of Nutrition*, 137(11), 2493S–2502S.

Roÿotiö, H. and Ouwehand, A.C., 2014, The fermentation of polydextrose in the large intestine and its benefical effects. *Benefical Microbes*, 18, 395-400.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Sanchez, B., Ruiz, L., Gueimonde, M., Ruas-Madiedo, P. and Margolles, A., 2013, Adaptation of bifidobacteria to the gastrointestinal tract and functional consequences. *Pharmacology Research*, 69:127-136.

Sanders, M.E. and Marco, M.L., 2010, Food formats for effective delivery of probiotics. *Food Science and Technology*, 1:65-85.

Sanders, M.E., 1998, Development of consumer probiotics for the US market. *British Journal Nutrition*, 80, 213-218

Shah, N.P., 2000, Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83:894-907.

Shah, N.P., 2001, Functional foods from probiotic and prebiotics. *Food Technology*, 55, 46-53.

Shin, H.S., Lee, J.H., Pestka, J.J., Ustunol, Z., 2000, Growth and Viability of Commercial *Bifidobacterium* spp. İn Skim Milk Containing Oligosaccharides and Inulin, *Journal of Food Science*, 65:884-887.

Shoaib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H.R., Shakeel, A., Ansari, A. and Niazi, S., 2016, Review Inulin : Properties, health benefits and food applications *Carbohydrate Polymers*, 147 :444-454.

Srisuvor, N., Chinprahast, N., Prakitchaiwattana, C. and Subhimaros, S., 2013, Effects of inulin and polydextrose on physicochemical and sensory properties of low-fat set yoghurt with probiotic-cultured banana purée. *LWT-Food Science and Technology*, 51:30-36.

Staffolo, M.D., Bertola, N., Martino, M. and Bevilacqua, Y.A., 2004, Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. *International Dairy Journal*, *14*,263-268.

Steed, H. and Macfarlane, S., 2009, Mechanisms of prebiotic impact on health, in *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*, ed. by Charalampopoulos D and Rastall R.A. Springer, New York, NY, pp.135-161

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Tamime, A.Y., Saarela, M., Sondergaard, A.K., Mistry, V.V. and Shah, N.P., 2005, Production and Maintenance of Viability of Probiotic Microorganisms in Dairy Products. In Probiotic Dairy Products, Tamime ,A.Y., Ed.; Blackwell Publishing Ltd. Oxford,UK,39-72.

Turkish Yogurt Standard., 1989, TSE 1330. Turkish Standards Institute, Ankara, Turkey.

Vasiljevic, T. and Shah, N.P., 2008, Probiotics-from Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18:714-728.

Vasiljevic, T., Kealy, T. and Mishra, V.K., 2007, Effects of β-glucan Addition to a Probiotic Containing Yogurt, *Journal of Food Science*, 72(7): C405-C411.

Vinderola, C., Prosello, W., Ghiberto, D. and Reinheimer, J., 2000, Viability of probiotic (*Bifidobacterium, Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian cheese. *Journal Dairy Science* 83, 1905-1911.

Vinderola, G., Céspedes, M., Mateolli, D., Cárdenas, P., Lescanu, M., Aimaretti, N., et al., 2011, Changes in gastric resistance of Lactobacillus casei in flavoured commercial fermented milks during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 64:269-275.

Wang, J., Guo, Z., Zhang, Q., Chen, W., Liu, X.M. et al., 2009, Fermentation characteristics and transit tolerance of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang in soymilk and bovine milk during storage. *Journal of Dairy Science*, 92: 2468-2476.

Zaman, S.A. and Sarbini, S.R., 2016, The potential of resistant starch as a prebiotic. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36(3):578-584.

Zhong, J., Luo, B., Xiang, M., Liu, H., Zhai, Z., Wang, T. and Craig, S.A.S., 2000, Studies on the effects of polydextrose intake on physiologic functions in Chinese people. *American Journal of Clinical* Nutrition, 72, *1503-1509*.

ÖZGEÇMİŞ

Esra Koçer 22 Kasım 1988 yılında Keçiören'de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimlerini Mustafa Kemal Atatürk İlköğretim Okulu, Malatya Cumhuriyet Lisesi'nde tamamladı. 2008 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde Ziraat Mühendisliği Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2013 yılında Süt Teknolojisi Bölümü'nden bölüm birincisi olarak mezun olup Ziraat Mühendisi ünvanı almaya hak kazandı. 2014 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.