GLİKOZ OKSİDAZ ENZİMİ VE FARKLI KARBONHİDRAT KAYNAKLARININ PROBİYOTİK SÜT FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Hatice Şeyma ALTINKAYNAK

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GLİKOZ OKSİDAZ ENZİMİ VE FARKLI KARBONHİDRAT KAYNAKLARININ PROBİYOTİK SÜT FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Hatice Şeyma ALTINKAYNAK
0000-0002-3231-005X

Prof. Dr. Tülay ÖZCAN
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2023
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Hatice Şeyma ALTINKAYNAK tarafından hazırlanan "GLİKOZ OKSİDAZ ENZİMİ VE FARKLI KARBONHİDRAT KAYNAKLARININ PROBİYOTİK SÜT FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Tülay ÖZCAN

Başkan	**:**	Prof. Dr. Tülay ÖZCAN 0000-0002-0223-3807 Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı	İmza
Üye	**:**	Prof. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN 0000-0002-8482-5055 Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı	İmza
Üye	**:**	Dr. Öğretim Üyesi Nur DEDE 0000-0001-7759-4271 Kocaeli Üniversitesi İzmit Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü, Gıda Teknolojisi Programı	İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ali KARA
Enstitü Müdürü
../../….

B.U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

03/11/2023

Hatice Şeyma ALTINKAYNAK

TEZ YAYINLANMA
FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezin/raporun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma izni Bursa Uludağ Üniversitesi'ne aittir. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet hakları ile tezin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları tarafımıza ait olacaktır. Tezde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığını ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederiz.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan "**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**" kapsamında, yönerge tarafından belirtilen kısıtlamalar olmadığı takdirde tezin YÖK Ulusal Tez Merkezi / B.U.Ü. Kütüphanesi Açık Erişim Sistemi ve üye olunan diğer veri tabanlarının (Proquest veri tabanı gibi) erişimine açılması uygundur.

Danışman Adı-Soyadı Tarih	Öğrencinin Adı-Soyadı Tarih
Tülay ÖZCAN	Hatice Şeyma ALTINKAYNAK
İmza Bu bölüme kişinin kendi el yazısı ile okudum anladım yazmalı ve imzalanmalıdır.	İmza Bu bölüme kişinin kendi el yazısı ile okudum anladım yazmalı ve imzalanmalıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GLİKOZ OKSİDAZ ENZİMİ VE FARKLI KARBONHİDRAT KAYNAKLARININ PROBİYOTİK SÜT FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Hatice Şeyma ALTINKAYNAK

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Tülay ÖZCAN

Bu çalışmada, glikoz oksidaz enzimi ile birlikte farklı karbonhidrat/prebiyotik potansiyeli olan substrat kaynaklarının probiyotik bakterilerde oksidatif stres ve süt fermantasyonu üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Substrat olarak glikoz, inülin, maltodekstrin ve polidekstroz şekerleri, glikoz oksidaz enzimi ile birlikte yağsız süt matriksine ilave edilmiştir. Prebiyotik kaynak/glikoz oksidaz enzimi kullanılmayan ve sadece glikoz oksidaz enzimi ilavesi yapılan yoğurtlar kontrol örnekleri olarak değerlendirilmiştir. Probiyotik yoğurtlarda fermantasyon ile birlikte mikrobiyal, fizikokimyasal, tekstürel ve duyusal değişmeler depolama süresi boyunca incelenmiştir.

Glikoz oksidaz enzimi ve karbonhidrat kaynakları fermantasyon sırasında gelişme oranını olumlu yönde etkilemiştir. Glikoz oksidaz enzimi, inülin ve maltodekstrin bakteri aktivitesini stimüle etmiştir. Glikoz varlığı da kompleks olmayan bu sistemde bakterilerin gelişimi için kolay ulaşılabilir substrat kaynağı olarak canlılığı desteklemiştir. Yeterli asitlik gelişimi, jelleşme, aroma gelişimi ve pıhtı oluşumunu arttırmıştır. Genel olarak hedonik ve QDA duyusal özelliklerinde örnekler arası ve depolama boyunca belirgin değişimler tespit edilmemiş ve tüketici beğenisi yüksek olarak tanımlanmıştır. Çalışma sonucunda glikoz oksidaz enzim aktivitesinin kullanılan enzim-substrat-bakteriyal suş interaksiyonu ile yakından ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır. Probiyotik fermantasyonda kullanılan suşların metabolik aktiviteleri, süt matriksinin bileşimi, prebiyotik karbonhidrat kaynağının özelliği ve bakteri gelişim dinamiklerine göre glikoz oksidaz enzim kinetiğinin araştırılmasının, farklı süt ve gıda modellerinde uygulanabilir sonuçları ile bu enzimin fonksiyonel süt ürünlerinde kullanılabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Glikoz oksidaz, probiyotik, prebiyotik, süt fermantasyonu

2023, xiv + 111 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF GLUCOSE OXIDASE ENZYME AND DIFFERENT CARBOHYDRATE SOURCES ON PROBIOTIC MILK FERMENTATION

Hatice Şeyma ALTINKAYNAK

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Tülay ÖZCAN

In this study, the effects of glucose oxidase enzyme and different carbohydrate/prebiotic potential substrate sources on oxidative stress and milk fermentation in probiotic bacteria were investigated. Glucose, inulin, maltodextrin and polydextrose sugars were added to the skim milk matrix with the glucose oxidase enzyme. Yogurts without prebiotic source/glucose oxidase enzyme and with only glucose oxidase enzyme added were evaluated as control samples. Microbial, physicochemical, textural and sensory changes along with fermentation in probiotic yoghurts were examined during the storage period.

Glucose oxidase enzyme and carbohydrate sources positively affected the growth rate during fermentation. Glucose oxidase enzyme, inulin and maltodextrin stimulated bacterial activity. The presence of glucose also supported viability in this non-complex system as an easily accessible substrate source for the development of bacteria. Adequate acidity development increased gelation, aroma development and curd formation. In general, no significant changes were detected in hedonic and QDA sensory properties between samples and during storage, and high consumer appreciation was identified. As a result of the study, it was concluded that glucose oxidase enzyme activity is closely related to the enzyme-substrate-bacterial strain interaction used. It has been determined that the investigation of glucose oxidase enzyme kinetics according to the metabolic activities of the strains used in probiotic fermentation, the composition of the milk matrix, the characteristics of the prebiotic carbohydrate source and the dynamics of bacterial growth, can be used in functional dairy products with results applicable to different milk and food models.

Key words: Glucose oxidase, probiotic, prebiotic, milk fermentation

2023, xiv + 111pages.

ÖNSÖZ ve/veya TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Tülay ÖZCAN danışmanlığında tarafımca hazırlanmış, Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne yüksek lisans tezi olarak sunulmuştur. Çalışmada; glikoz oksidaz enzimi ve farklı prebiyotik karbonhidrat kaynaklarının probiyotik süt fermantasyonu üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgisini ve desteğini esirgemeyen, her aşamada yol gösterici olarak yanımda bulunan değerli danışmanım Prof. Dr. Tülay ÖZCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam boyunca yol arkadaşım olan dostum Miray ÖZCAN'a değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatım boyunca çalışma azmini örnek aldığım, bana güç veren ve bu yolda ilerlememde büyük desteği olan ablam Ayşenur ALTINKAYNAK BALKAN'a, dostum Neslihan ORHAN'a ve maddi manevi destekleri için anneme ve babama teşekkürlerimi sunarım.

Hatice Şeyma ALTINKAYNAK
03/11/2023

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET……..i
ABSTRACT……..……ii
ÖNSÖZ ve/veya TEŞEKKÜR……..…....iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ……..vi
ŞEKİLLER DİZİNİ……..……..xii
ÇİZELGELER DİZİNİ……..…..ix
1. GİRİŞ…..……..…….....1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI…… 7
2.1.Fonksiyonel Gıdalar ve Probiyotikler……..7
2.2.Probiyotik Bakterilerin Gelişimi ve Oksidatif Stres.……15
2.3.Glikoz Oksidaz ve Mekanizması……...22
2.4. Prebiyotikler…….29
3.MATERYAL ve YÖNTEM…….40
3.1.Materyal…… 40
3.2. Yöntem…….40
3.2.1. Deneme deseni……...41
3.2.2. Kültürlerin hazırlanması……42
3.2.3. Glikoz oksidaz enziminin hazırlanması……42
3.2.4. Probiyotik yoğurt üretimi……..42
3.3. Probiyotik Yoğurt Örneklerine Uygulanan Analizler……..45
3.3.1. Mikrobiyolojik analizler……45
3.3.2. Fizikokimyasal analizler……47
3.3.3. Aroma maddeleri tayini.……49
3.3.4. Organik asit tayini..……...…49
3.3.5.Enstürmental tekstür analizi……...50
3.3.6.Duyusal analizler……51
3.3.7.İstatistiksel analizler……...51
4. BULGULAR ve TARTIŞMA ……...……52
4.1. Mikrobiyolojik Özellikler…….52
4.2. Fizikokimyasal Özellikler……63
4.2.1. Fermantasyon ve depolama boyunca pH değişimi……63
4.2.2. Titrasyon asitliği……66
4.2.3. Serum ayrılması……67
4.2.4. Su tutma kapasitesi……..……69
4.2.5. Renk değerleri *(L*, a*, b*)*……..……..…….71
4.2.6. Aroma bileşenleri……..74
4.2.7. Organik asitler……...77
4.3. Tekstürel Analizler……...80
4.3.1. Sıkılık……80
4.3.2. Konsistens……..82
4.3.3. İç yapışkanlık……84
4.3.4. Viskozite indeksi……...86
4.4. Duyusal Analizler……88
5. SONUÇ……..…….....97
KAYNAKLAR……..…101

ÖZGEÇMİŞ……...111

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
$C_6H_{12}O_7$	Glikonik asit
g	gram
H_2O_2	Hidrojen peroksit
kcal	Kilokalori
kg	Kilogram
kob	Koloni oluşturan birim
log_{10}	10 tabanında logaritma
mg	Miligram
mL	Mililitre
ppm	Milyonda bir
subsp.	Alt tür

Kısaltmalar	Açıklama
AOAC	Association of Analytical Communities (Analitik Topluluklar Birliği)
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
FAO	Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
FDA	Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç Dairesi)
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
GRAS	Generally Recognized as Safe (Genellikle Güvenilir Kabul Edilen)
GOX	Glikoz Oksidaz Enzimi
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
FOS	Fruktooligosakkarit
GOS	Galaktooligosakkarit
XOS	Ksilooligosakkarit
IMO	İzomaltooligosakkarit
NaCl	Sodyum Klorür
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADH	Nikotinamid Adenin Dinukleotid Hydrid
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SCFA	Kısa zincirli Yağ Asitleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Fonksiyonel gıdalar ve sağlık üzerine etkileri…….. 8
Şekil 2.2. Probiyotik suşun sahip olması gereken özellikler……..…… 10
Şekil 2.3. Prebiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki fonksiyonel etkileri…… 12
Şekil 2.4. D-glukozdan D-glukonolakton oluşumu…….…….. 22
Şekil 2.5. D-glikonolaktondan su varlığında glikonik asit oluşumu…….. 23
Şekil 2.6. Glikoz oksidaz-FAD enzim koenzim yapısı…….. 24
Şekil 2.7. Glikoz oksidaz enzim reaksiyonu…….. 25
Şekil 2.8. Çapraz bağlanma ile katalaz ve glikoz oksidaz enzimlerinin immobilizasyonu……... 27
Şekil 2.9. Prebiyotik kaynakları……. 30
Şekil 2.10. Prebiyotik çeşitleri ve bulundukları doğal kaynaklar…… 31
Şekil 2.11. Prebiyotiklerin doğal kaynaklardan elde edilme yöntemleri……. 32
Şekil 2.12. Prebiyotiklerin bağışıklık sistemine etkileri…….. 33
Şekil 3.1. Probiyotik yoğurt örneklerine ait görseller…… 43
Şekil 3.2. Probiyotik yoğurt üretimİ akış şeması ……..... 44
Şekil 3.3. Hunter-renk sistemindeki parametrelerin skalası……... 49
Şekil 4.1. Probiyotik yoğurtlarda *S. thermophilus* sayılarındaki değişim……. 56
Şekil 4.2. Probiyotik yoğurtlarda *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* sayılarındaki değişim…….. 58
Şekil 4.3. Probiyotik yoğurtlarda *B. animalis subsp. lactis* sayılarındaki değişim……..…… 60
Şekil 4.4. Probiyotik yoğurtlarda *L.acidophilus* sayındaki değişim……..……. 62
Şekil 4.5. Fermentasyon süresi boyunca probiyotik yoğurtlarda pH değerlerindeki değişim……... 64
Şekil 4.6. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtlarda pH değerleri değişimi…….. 65
Şekil 4.7. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtlarda titrasyon asitliği (%) değerlerinin değişimi……...…….. 67
Şekil 4.8. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların serum ayrılması değerleri…….. 69
Şekil 4.9 Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların su tutma kapasitesi değerleri…….. 70
Şekil 4.10. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların *L**, *a** ve *b** renk değerlerindeki değişim…….. 73
Şekil 4.11 Probiyotik yoğurtların diasetil aroma bileşeni miktarlarına ait değişim 76
Şekil 4.12 Probiyotik yoğurtların asetaldehit aroma bileşeni miktarlarına ait değişim…….. 76
Şekil 4.13 Probiyotik yoğurtların laktik asit miktarları (mg/kg)……..... 79
Şekil 4.14 Probiyotik yoğurtların asetik asit miktarları (mg/kg)…… 79
Şekil 4.15 Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların sıkılık (g) değerleri değişimi……..……. 82
Şekil 4.16 Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların konsistens (gs) değerlerindeki değişim……... 84

Şekil 4.17 Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların iç yapışkanlık (g) değerlerindeki değişim…….. 86
Şekil 4.18 Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların viskozite indeksi (gs) değerlerindeki değişim……..……..... 88
Şekil 4.19. Probiyotik yoğurtların önemli hedonik-duyusal özelliklerindeki örnekler arası değişim grafiği…… 91

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. Deneme deseni…… 41
Çizelge 4.1. Fermantasyon öncesi ve sonrası bakteri sayısı değişimi (log_{10} kob/g) 53
Çizelge 4.2. *S. thermophilus*'a ait LSD testi sonuçları (log_{10} kob/g)…….. 55
Çizelge 4.3. *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*'a ait LSD testi sonuçları (log_{10} kob/g)…… 57
Çizelge 4.4. *B. animalis subsp. lactis*'e ait LSD testi sonuçları (log_{10} kob/g)…… 59
Çizelge 4.5. *L. acidophilus*'a ait LSD testi sonuçları……. 61
Çizelge 4.6. Depolama boyunca örneklerin pH değişimine ait LSD testi sonuçları…….. 65
Çizelge 4.7. Depolama boyunca örneklerin titrasyon asitliği LSD testi sonuçları…… 66
Çizelge 4.8. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların serum ayrılması değerleri LSD testi sonuçları (mL/25 gr) ……. 68
Çizelge 4.9. Depolama boyunca örneklerin su tutma kapasitesi değerlerine ait LSD testi sonuçları……..... 70
Çizelge 4.10. Depolama boyunca örneklerin *L**, *a** ve *b** renk değerlerine ait LSD testi sonuçları……..... 72
Çizelge 4.11. Probiyotik yoğurt örneklerinin içerdikleri aroma bilenleri miktarları 75
Çizelge 4.12. Örneklerin içerdikleri organik asit miktarları…….…… 77
Çizelge 4.13. Depolama boyunca örneklerin sıkılık değerlerine ait LSD testi sonuçları (g)…… 81
Çizelge 4.14. Depolama boyunca probiyotik yoğurtların konsistens değerlerine ait LSD testi sonuçları (gs)……. 83
Çizelge 4.15. Depolama boyunca probiyotik yoğurtların iç yapışkanlık değerlerine ait LSD testi sonuçları (g)……...……. 85
Çizelge 4.16. Depolama boyunca örneklerin viskozite indeksi değerlerine ait LSD testi sonuçları (gs)…….……. 87
Çizelge 4.17. Depolama boyunca probiyotik yoğurt örneklerinin hedonik test-tüketici beğenisine ait duyusal analiz LSD testi sonuçları…… 92
Çizelge 4.18. Depolama boyunca probiyotik yoğurt örneklerinin hedonik test-tüketici beğenisine ait duyusal analiz LSD testi sonuçları…… 93
Çizelge 4.19. Depolama boyunca örneklerin duyusal kantitatif tanımlayıcı analiz (QDA) değerlendirme sonuçlarına ait LSD testi sonuçları……. 94
Çizelge 4.20. Depolama boyunca örneklerin duyusal kantitatif tanımlayıcı analiz (QDA) değerlendirme sonuçlarına ait LSD testi sonuçları……. 95
Çizelge 4.21. Depolama boyunca örneklerin duyusal kantitatif tanımlayıcı analiz (QDA) değerlendirme sonuçlarına ait LSD testi sonuçları……. 96

1. GİRİŞ

Yüzyıllar boyunca insanlar laktik asit ve probiyotik bakterileri içeren kefir ve yoğurt gibi fermente süt ürünlerini tüketmiş ve sağlık etkilerinden yararlanmıştır. Son yıllarda tüketicilerin sağlıklı yaşam tarzı beklentileri, probiyotik bakterileri içeren süt ya da bitkisel bazlı fonksiyonel ürünlerin tüketimini arttırarak insan, fonksiyonel gıda ve sağlık arasındaki pozitif etkileşimi ortaya koyan bilimsel çalışmaları arttırmıştır (Essa vd., 2023).

Probiyotik süt ürünlerinin üretimi sırasında gerçekleşen fermantasyon, probiyotik mikroorganizmaların gelişimi ve canlılığının yanı sıra oluşan biyoaktif bileşenler ile de sayısız yararlar sağlamaktadır. Bu fermantasyon ve sağlık açısından etkili metabolomik ürünlerin ortaya çıkışı fonksiyonel süt ürünlerinin tüketimini tüm dünyada arttırmaktadır. Süt ürünleri içerisinde, peynir ve dondurma gibi ürünlerin sahip oldukları teknolojik avantajların yanı sıra, özellikle yoğurt ve fermente sütler probiyotik bakterilerin canlılığının korunduğu gıda matriksleri olarak tüketiciler ve endüstriyel üreticiler tarafından daha çok tercih edilmektedir (Champagne vd., 2018).

Fonksiyonel gıdalara biyoterapötik etki kazandıran başlıca bileşenler vitaminler, mineraller, flavonoidler, antioksidanlar, diyet lifleri, omega-3/ 6/ 9 yağ asitleri, prebiyotik karbonhidratlar ve probiyotik bakteri kültürleridir (Ozdemir & Ozcan, 2020).

Probiyotikler FAO ve WHO tarafından, "yeterli miktarlarda alındıklarında konakçı sağlığına yararı olan canlı mikroorganizmalar" olarak tanımlanmaktadır. *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. türleri yaygın olarak ürünlerde kullanılan probiyotik bakterilerdir. Bu probiyotik bakterilerin sağlık üzerindeki olumlu etkileri ile süt ürünlerine ilave edilip dengeli beslenmenin bir parçası olarak kullanımı gün geçtikçe giderek artmaktadır (Allgeyer vd., 2010; Martirosyan vd., 2022)

Probiyotik gıdaların fonksiyonel olarak tanımlanabilmesi için ürünün terapötik seviyede probiyotik bakteri içermesi ve bakterilerin canlılığını sürdürebilmesi için de uygun koşulların sağlanabilmesi kritik öneme sahip bulunmaktadır. Bu fonksiyonel etkinin

sağlanabilmesi adına probiyotik ürünlerin en az 10^6-10^7 kob/mL/g probiyotik bakteri içermesi gerekmektedir (O'Toole vd., 2017; Latif vd., 2023).

Prebiyotikler ilk olarak 'bağırsaktaki sınırlı sayıdaki bakterilerin gelişimini ve aktivitesini seçici olarak destekleyen ve konakçının sağlığı üzerine olumlu etkileri olan sindirilemeyen gıda bileşenleri' olarak tanımlanmıştır (Gibson & Roberfroid, 1995). Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Birliği (ISAPP) tarafından ise prebiyotikler daha sonra "konağın bağırsak mikrobiyotasında bazı mikro organizmaların seçici olarak kullandığı, sağlık üzerinde faydalı etkileri bulunan substratlar"olarak belirtilmiştir (Santos vd., 2020).

Prebiyotik tanımı, belirli türler için seçiciliğin dışında, diyet lifi tanımı ile de örtüşmektedir. Prebiyotikler ince bağırsakta sindirilmeden kalın bağırsağa ulaşmakta, burada fermente olmakta ve bağırsaktaki yararlı bakterilerin gelişimini sağlayarak konakçı sağlığını olumlu etkilemektedir. Prebiyotiklerin bağışıklığı arttırıcı, kanser, kalp-damar rahatsızlıkları ve obeziteye karşı koruyucu etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (Sharma vd., 2011; Abed vd., 2016).

Prebiyotik olarak sınıflandırılan ve gıdalara ilave edilen çeşitli oligosakkaritler arasında; frukto-oligosakkaritler, inülin, izomalto-oligosakkaritler, laktilol, laktosukroz, laktuloz, oligofruktoz, pirodekstrinler, soya oligosakkaritleri, transgalakto-oligosakkaritler ve ksilo-oligosakkaritler yer almaktadır. En yaygın tüketilen prebiyotikler arasında ise fruktooligosakkaritler ve galaktooligosakkaritler bulunmaktadır (Abed vd., 2016; Champagne vd., 2018).

Prebiyotik gıda bileşenlerinin; gastrointestinal sistemin üst kısmında emilime ve sindirime dirençli olmaları, bağırsak mikrobiyotası tarafından fermente olmaları ve fonksiyonel etki yaratacak şekilde insan sağlığına faydalı bakterilerin çoğalmasını destekleme yeteneğine sahip olma özelliklerinde olması beklenmektedir (Gibson & Roberfroid, 2008; Shaha vd., 2020).

Gastointestinal sağlığın öneminin ve prebiyotiklerin bağırsak sağlığı üzerindeki etkisinin giderek daha iyi anlaşılır olması ile birlikte prebiyotiklerin tek başına veya

probiyotikler ile sinerjik kombinasyon halinde tüketimi de yaygınlaşmaktadır (Sharma vd., 2011; Latif vd., 2023). Prebiyotikler ve probiyotiklerin birlikte kullanımı simbiyotik ilişki olarak sınıflandırılmaktadır. Bu simbiyotik interaksiyonlar ile probiyotiklerin canlı kalma süresi ve konakçıya sağlanan fonsiyonel fayda artmaktadır. Diğer bir ifade ile prebiyotiklerin, probiyotik bakterilerin kofaktörleri olduğu da söylenebilmektedir (Şimşek & Bilgili, 2014; Shaha vd., 2020).

Prebiyotiklerin bağırsak ve bağışıklık sistemini doğrudan etkilediği yapılan çalışmalarda saptanmıştır. Bağırsak mikrobiyal dengesi, günlük yaşantı içerisinde stres, antibiyotik kullanımı ve kötü beslenme gibi faktörlerin etkisi ile bozulabilmektedir. Bu sebeple bağırsaktaki probiyotik bakterilerin gelişiminin desteklenmesinin hayati öneme sahip olduğu bilinmektedir. Sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotasında prebiyotiklerin fermente olmasıyla oluşan kısa zincirli yağ asitleri (KZYA), bağırsakta probiyotik bakterilerin gelişimini desteklemekte ve ayrıca istenmeyen bakterilerin kontrol altında tutulmasına da yardımcı olmaktadır. KZYA oluşumu ile, bağırsak pH'sının düşmesi sağlanmakta ve minerallerin emilimi de artmaktadır (Patel vd., 2014; Blaak vd., 2020).

Prebiyotikler için belirlenmiş bir günlük alım miktarı olmamasına karşın yetişkinlerde günde 4-20 g arasında prebiyotik tüketiminin fonksiyonel etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Sharma vd., 2011).

Literatürde süt ürünlerinin probiyotik bakteriler için iyi bir gıda matriksi olduğu ve bu ürünlerin düzenli tüketiminde sağlık üzerindeki olumlu etkilerin şekillendiğini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Sanders & Marco, 2010; Cruz vd., 2013). Fermente süt ürünlerine probiyotik bakterilerin ilavesi, insan sağlığına olan etkileri ve sütteki fermantasyon sürecinin etkili yürütülmesi tüketiciler ve üreticiler için önemli bir konu olmaya devam etmektedir (Giraffa, 2012; Latif vd. 2023). Bununla birlikte, probiyotik bakterilerin süt ürünlerine ilavesi sırasında asit stresi, soğuk stresi ve oksidatif stres gibi bazı teknolojik zorluklar ile karşılaşılmaktadır (Granato vd., 2010; Cruz vd., 2013).

Süt ürünlerine ilave edilen probiyotik bakterilerin gelişimi ve depolama süresi boyunca canlılığı; kullanılan suşlar, bakterilerin gelişme koşulları, hidrojen peroksit üretimi, pH ve fermantasyon sırasındaki pH değişim hızı, son ürünün asitliği, oluşan laktik ve asetik asit seviyesine bağlı olarak değişebilmektedir (Shah, 2000; Altınkaynak ve Özcan, 2021). Bu faktörlerin yanı sıra, ürün matriksinin oksijen içeriği ve redoks potansiyeli de fermente sütlerin depolanması sırasında probiyotik bakterilerin canlılığını etkileyen önemli faktörlerdendir (Akın & Daşnik, 2015).

Probiyotik bakterilerin sahip olduğu anaerobik sistemler sebebi ile, probiyotik içeren ürünlerdeki oksijen varlığı depolama süresince bu bakteriler için toksik etki yaratarak bakteri sayısını azaltmakta ve ürünün fonksiyonel özelliğini olumsuz etkilemektedir. Terapötik etkinin korunması için oksijen seviyesinin depolama süresi boyunca mümkün olduğunca az olması istenmektedir (Cruz vd., 2010).

Probiyotik bakteri içeren ürünlerde ürün içerisindeki çözünmüş oksijenin uzaklaştırılarak fonksiyonel etkinin arttırılması amacı ile çalışmalar yapılmaktadır. Bu amaç için kullanılmaya başlanan yöntemlerden birisi de fermente süt ürünlerinde glikoz oksidaz enziminin kullanımıdır (Cruz vd., 2010; Cruz vd., 2013; Altınkaynak ve Özcan, 2021).

Glikoz oksidaz, *Aspergillus* ve *Penicillium* gibi küfler tarafından üretilen, glikoz ve oksijenden, glikonik asit ve hidrojen peroksiti katalize eden bir enzimdir (Leskovac vd., 2005). Glikoz oksidaz gıda endüstrisinde; lipid oksidasyonunu geciktirmek, kötü tadı önlemek, enzimatik esmerleşmeyi kontrol etmek ve rengi stabilize etmek amacı ile kullanılmaktadır (Castellari vd., 2000; Parpinello vd, 2002; Cruz vd., 2010).

Glikoz oksidaz enziminin reaksiyonunda, ß-D glikozun enzimatik oksidasyonu sonucu glikonik asit ve hidrojen peroksit ortaya çıkmaktadır. ß-D glikoz; D-glukono-1,5-lakton ve hidrojen peroksit'e katalize olurken eş zamanlı olarak D-glukono-1,5-lakton da glikonik aside hidrolize olmaktadır. Reaksiyon sırasında glikoz oksidazın oksijeni kullanması ile ortamdaki çözünmüş oksijen miktarı azalmaktadır (İçli, 2008; Altınkaynak ve Özcan, 2021).

Glikoz oksidaz enziminin kullanımı ile, üründe çözünmüş oksijen seviyesinin azalarak probiyotik bakteri sayısının insan sağlığına olumlu etki sağlayacak seviyede korunduğu ve bu enzimin alternatif bir kullanımı olacağı önerilmektedir. Yapılan çalışmalarda bu yaklaşım ile glikoz oksidazın oksijene en çok duyarlı suşlardan olduğu bilinen *B. longum* sayısını dahi koruduğu belirtilmektedir. Dolayısı ile probiyotik yoğurtlarda oksidatif stresi azaltmak amacı ile glikoz oksidaz enzimi ilavesinin farklı bir seçenek olabileceği belirtilmektedir (Cruz vd., 2010; Cruz vd., 2013).

Glikoz oksidaz enzimi, depolama süresi boyunca ürünün içerisindeki oksijeni tüketerek katkı maddesi kullanımına gerek kalmadan probiyotik bakterilere koruyucu etki yaratabilmektedir. Bu nedenle probiyotik içeren ürünlerde glikoz oksidaz enzimi, bakteri canlılığının korunabilmesi için önemli bir alternatif olarak değerlendirilmektedir. Aynı zamanda glikoz oksidaz enzimi, yoğurt gibi fermente süt ürünlerinin üretimi sırasında farklı bir proses gerektirmediği için doğrudan ürüne ilave edilebilir ve endüstriyel olarak uygulanması da kolaydır (Cruz vd., 2010).

Bununla birlikte bazı probiyotik suşlar oksijenin toksisitesinden korunmak için farklı savunma mekanizmaları da gösterebilmektedir. Probiyotiklerin maruz kaldığı oksijen konsantrasyonu, simbiyotik etkileşimler ve ürün matriksi bileşiminin bakterilerin metabolik ve biyokimyasal davranışları üzerinde önemli etkisinin olduğu belirtilmektedir (Talwalkar & Kailasapathy, 2003).

Son yıllarda bakteri gelişimi ve terapötik etkinin geliştirilmesi için sinerjik kombinasyonların geliştirilmesine yönelik çalışmalar giderek artmaktadır.

Bu çalışmada,

Farklı karbonhidrat kaynaklarını (glikoz, inulin, maltodextrin ve polidekstroz) içeren probiyotik süt matriksinde glikoz oksidaz enziminin aktivitesi, süt asidi/probiyotik bakterilerin gelişimi ve süt fermantasyonuna etkisinin araştırılması,

Probiyotik yoğurt üretiminde kullanılan bakterilerin (*Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis, Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus) oksidatif strese töleransının glikoz oksidaz enzimi içeren ve içermeyen sistemlerde fermantasyon ve depolama boyunca bakteri canlılığı ile belirlenmesi,

Depolama boyunca ürünün oksidasyon stabilitesinin, anaerobik ve aerobik bakteri gelişim kinetikleri, teknolojik ve terapötik özelliklerinin incelenmesi ile probiyotik süt matriksinde enzim-karbonhidrat-bakteri dinamiklerinin araştırılması,

Yoğurt örneklerinin; fizikokimyasal (pH, titrasyon asitliği, renk, serum ayrılması, su tutma kapasitesi), tekstürel (sıkılık, konsistens, iç yapışkanlık, viskozite indeksi) ve biyokimyasal (organik asit ve aroma maddesi) analizler ile tekno-fonksiyonel özelliklerinin saptanması,

Duyusal analizlerde, yoğurtlarda ürüne özgü duyusal kantitatif tanımlayıcı özellikler (QDA) ve duyusal-hedonik/genel kabul edilebilirlik değerleri ile tüketici beğenisinin tanımlanması,

Gerçekleştirilen analizler sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve yorumlanması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Fonksiyonel Gıdalar ve Probiyotikler

Günümüzde diyetlerin bireylerin yaşam kalitesini etkilemekte önemli bir faktör olduğunun ortaya çıkışı ile birlikte, hayat standartlarının iyileşmesi, besinlerin spesifik/fizyolojik etkileri ve hastalıklarla olan ilişkilerinin ortaya çıkması beslenme alışkanlıklarını değiştirmektedir (Essa vd., 2023).

Gün geçtikçe değişen tüketim alışkanlıkları ve hareketli yaşam tarzının dünya genelinde bireylerin sağlığını olumsuz etkilediği düşünülmektedir. Uygulanan klinik ve antibiyotik tedavilerinin de bireylerdeki yan etkilerinin, insanları hastalıklara karşı tedavi etmekten çok koruyucu yaklaşımları tercih etmeye yöneltmektedir. Günlük diyetler ile birlikte alınan fonksiyonel gıdalar bu amaçla insan sağlığı üzerine korucu etkiler göstermektedir (Hasler, 2002; Cruz vd., 2007).

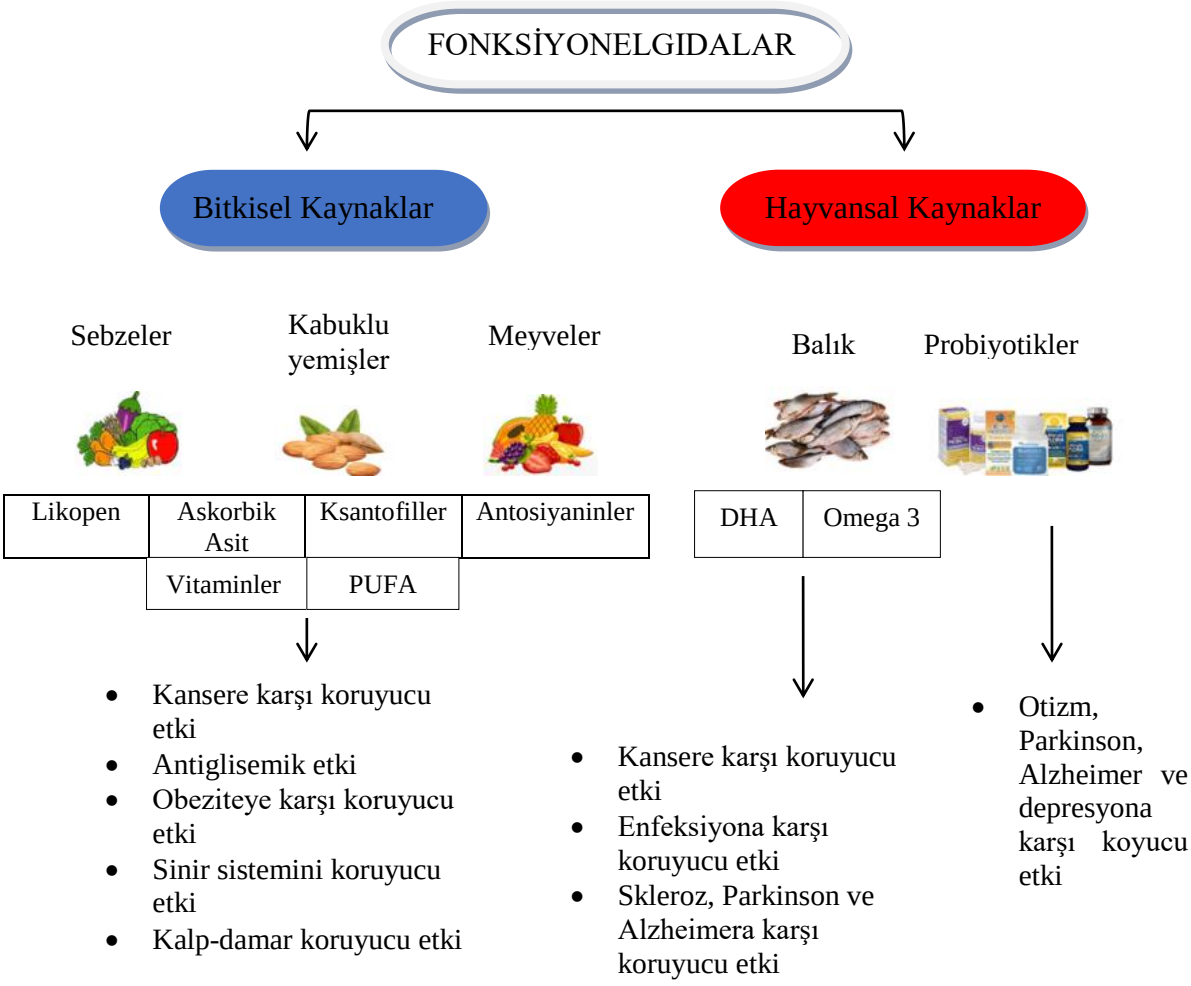
1980'lerde tanıtılan ve piyasaya sürülen fonksiyonel gıdalar kavramı besleyici temel bileşenlerinin yanı sıra belirli vücut işlevlerine yardımcı olan etken maddeleri içeren ham ya da işlenmiş gıdaları kapsamaktadır (Cruz vd., 2007; Mellentin & Heasman, 2014).

Belirli hastalıkları önlemek ve tedavi etmek için kullanılan fonksiyonel gıdalar, dahil edilen bileşenlere bağlı olarak yıllar içinde tasarım gıdalar, farmasötik gıdalar ve nutrasötikler gibi farklı isimlerle de anılmaktadır (Ali vd., 2022).

Fonksiyonel gıdalar, gelenekselden farklı olarak temel beslenmenin sağladığı sağlık yararlarının ötesinde bireye fayda sağlayan taze, işlenmiş ya da nutrasötik bileşenler ile zenginleştirilmiş gıdalardır. Fonksiyonel gıdalar için bu etkiler herhangi bir hastalığı iyileştirmede temel bileşen madde olarak yer almamakta, ancak genel sağlığı iyileştirici olarak rol almaktadır. Fonksiyonel gıdalar aynı zamanda terapötik gıdalar ve tıbbi gıdalar gibi isimleri ile de anılmaktadır. Bu gıdaların, bireye istenen fonksiyonel etkileri verebilen bileşenlerden bir veya birkaçını içermesi gerekmektedir. Fonksiyonel gıdaların büyük ve önemli bir kısmını; probiyotik, prebiyotik, diyet lifleri, antioksidanlar, fenolik bileşikler, esansiyel yağ asitleri ve biyoaktif peptitleri içeren

gıdaların oluşturduğu bilinmektedir (Talwalkar & Kailasapathy, 2004a,b; Martirosyan vd., 2022; Essa vd., 2023).

Fonksiyonel gıdalar ve sağlık üzerine etkileri Şekil 2.1. de belirtilmektedir.



Şekil 2.1. Fonksiyonel gıdalar ve sağlık üzerine etkileri (Essa vd., 2023).

Probiyotikler fonksiyonel gıdaların en önemli grubunu oluşturmaktadır ve fonksiyonel gıda marketinin %65'inin probiyotik içerikli gıdalardan oluştuğu belirtilmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların önemi düşünüldüğünde, bağırsak mikrobiyotasının bağışıklık sistemi ve kolon sağlığı üzerindeki olumlu etkisini gösteren çalışmaların sayısı gün geçtikçe giderek artmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasındaki çeşitlilik,

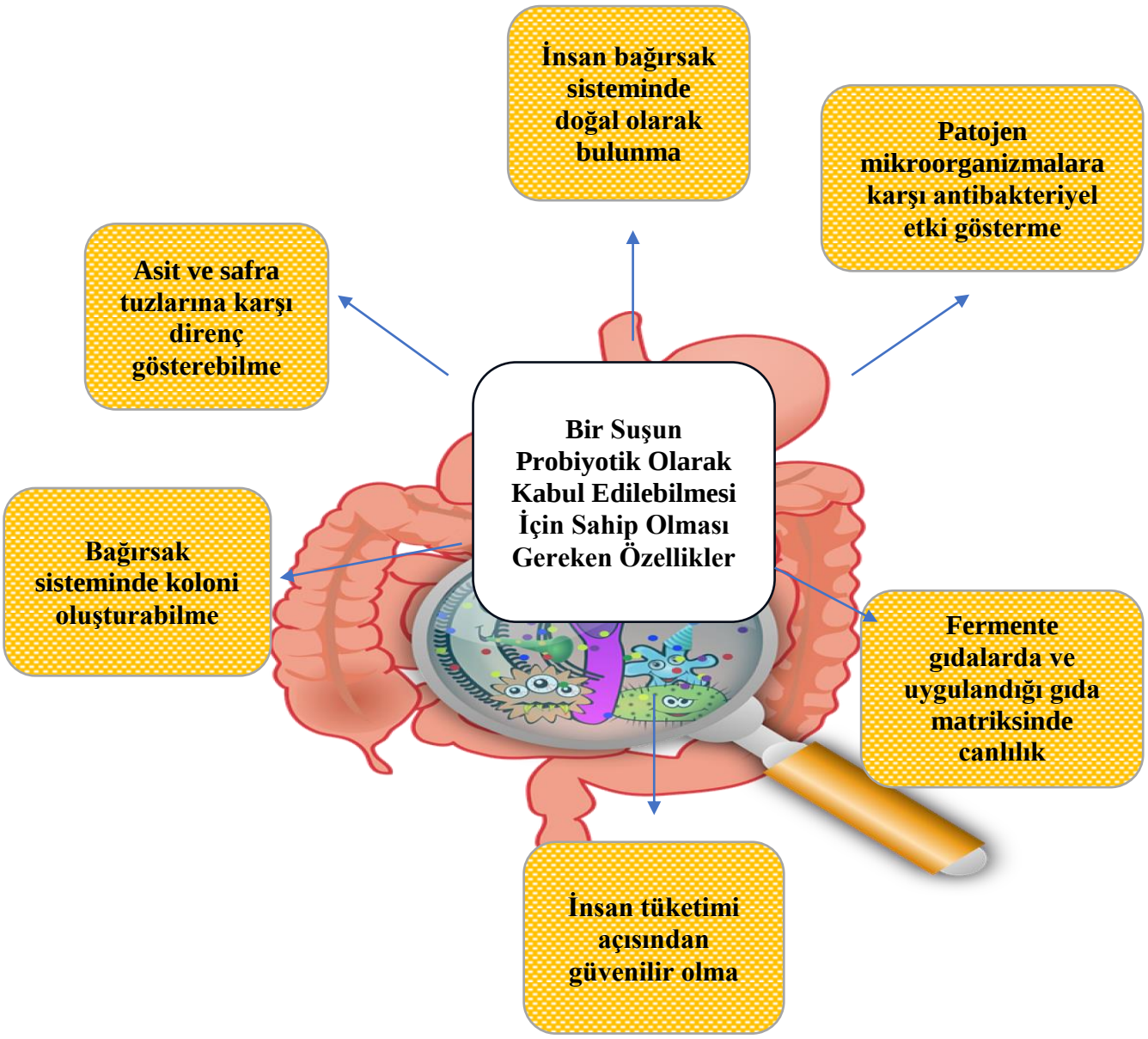
mikroflorada bulunan bakterilerin işlevleri ve bu bakterilerin bağırsaktaki stabilitesi konakçı sağlığını etkilemektedir. Bağırsak sistemindeki bakterilerin yetersiz sayı ve aktivitesi ise kanser, obezite, tip 2 diyabet, Crohn hastalığı ve Çölyak gibi birçok hastalık ile ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda bağırsak mikrobiyotasındaki çeşitliliğin arttırılması ve bakteri canlılığının korunmasının bu hastalıkların tedavisinde olumlu etkisinin olduğu yapılan klinik çalışmalarla ispatlanmıştır (Martirosyan vd., 2022; Xu vd., 2022; Essa vd., 2023).

Probiyotikler, "yeterli miktarda alındığında konakçının sağlığına fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar" olarak tanımlanmaktadır (Hill vd., 2014). Probiyotik terimi ilk kez 1965'te Lilly ve Stillwell tarafından büyümeyi destekleyici maddeleri tanımlamak için belirtilmiştir. Günümüzde ise bu terimin kapsadığı mikroorganizmaların sayısı oldukça artmıştır. *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, ve *Bacillus* türleri probiyotik etki potansiyelleri dikkat çeken mikroorganizma grupları olarak sınıflandırılmaktadır (Tannock vd., 2000; Latif vd., 2023).

Probiyotikler ayrıca, "canlı organizmaları ve de cansız maddeleri içeren, bağırsak mikrobiyal dengesine katkıda bulunan organizmalar ve maddeler" olarak Parker (1974) tarafından da tanımlanmıştır.

Daha sonra Fuller (1989) tarafından bu tanımdaki 'maddeler' ifadesi eleştirilmiş ve 'bağırsak mikrobiyal dengesini iyileştirerek konakçı üzerine fonksiyonel etkisi bulunan canlı bir mikrobiyal gıda takviyesi' olarak tekrar açıklanmıştır. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ortak çalışma grubu, probiyotikleri "yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar" olarak belirtmektedir (FAO & WHO, 2001). Günümüzde bu tanım, Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği tarafından kabul görmektedir.

Şekil 2.2.'de probiyotik suşların sahip olması gereken özellikler belirtilmektedir.



Şekil 2.2. Probiyotik suşun sahip olması gereken özellikler (Sharma vd., 2021).

Probiyotiklerin birçok hastalığın önlenmesi ve sağlık üzerine faydaları ile ilgili yapılan klinik çalışmalar giderek artmaktadır. Dünya genelinde probiyotiklerin kullanımının yoğunlaşması ile birlikte insan sağlığı üzerine olan etkilerinin incelenmesi zorunlu hale gelmektedir. Probiyotiklerin tüm bu yararlı fonksiyonları türe özgü olarak değişebilmektedir. Bu sebeple kullanılan suşun ve substratın etkileri, farklı çalışmalarda *in vitro*, *in vivo* ve *in situ* testler ile desteklenmelidir (Kullisaar vd., 2012; Ozcan ve Eroğlu, 2023).

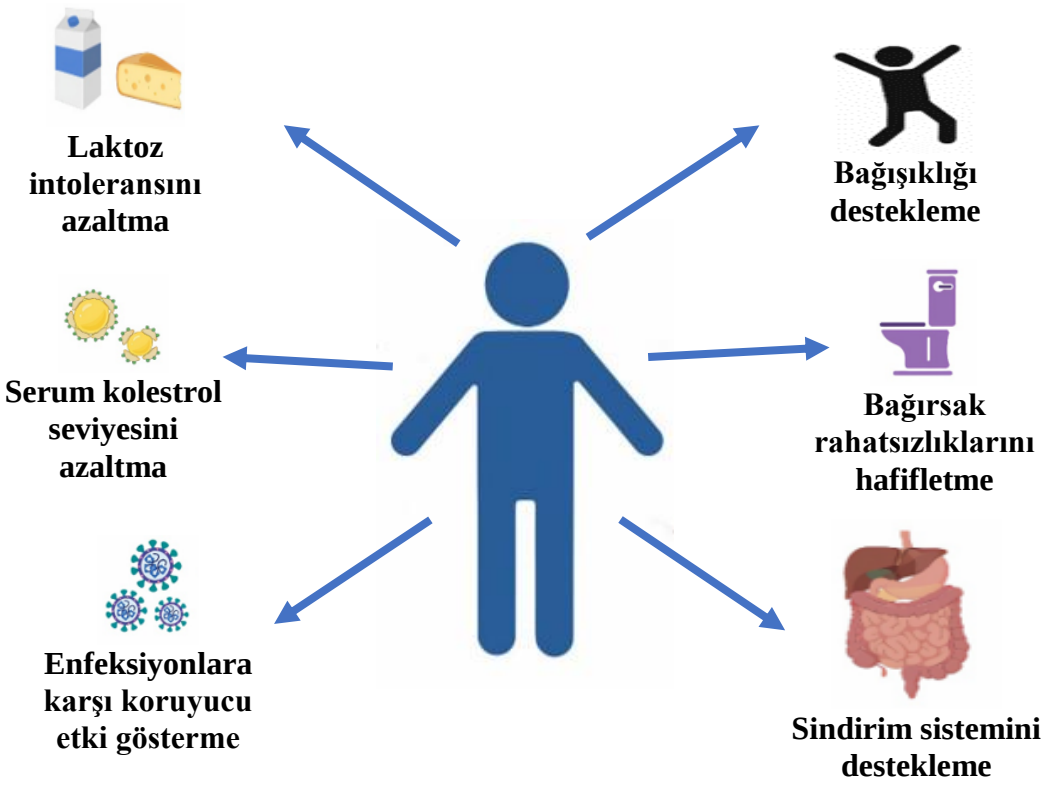
Sağlık üzerine olumlu etkileri sebebi ile *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerinin birçok üyesi probiyotik olarak sınıflandırılmakta ve gıda olarak tüketimi güvenilir olarak (GRAS-Generally Recognized As Safe**)** kabul edilmektedir. Bu bakteriler insan bağırsağındaki faydalı bakteri popülasyonunu arttırırken patojenleri de baskılayarak bağırsak hastalıklarına karşı direnç oluşturmaktadır (Burdock vd., 2006; Reid, 2015).

Süt ürünlerinin sindirimine yardımcı olmaları, bağışıklık sistemini güçlendirmeleri, gıda allerjenlerine karşı koruyucu mekanizmaları, antikor üretiminin uyarılması, antimikrobiyal bileşen üretme ve kolon kanserine karşı etkileri probiyotik bakterilerin fonksiyonel yararları olarak sıralanabilmektedir (O'Toole vd., 2017). Laktoz intoleransının hafifletilmesi, bazı kanser türlerinin önlenmesi ve kandaki kolestrol seviyesinin düşürülmesinde probiyotik bakterilerin tüketilmesinin etkili olduğu da yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (Kailasapathy & Chin 2000; Talwalkar & Kailasapathy, 2004b; Reid, 2015). Probiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki fonksiyonel etkileri Şekil 2.3'de belirtilmektedir.

Probiyotik bakterilerin sağlık üzerindeki olumlu etkileri ile gıda endüstrisinde özellikle süt endüstrisi geniş bir pazar potansiyeline sahiptir. Probiyotik bakterilerin ilave edildiği gıda matriksleri incelendiğinde süt ve süt ürünleri en yaygın olarak kullanılan, probiyotik bakterilerin metabolitleri ya da postbiyotik oluşumunun teşvik edildiği fonksiyonel etkileri bilinen ürünlerdir. Çeşitli süt ürünleri arasında fermente süt ve yoğurt probiyotik bakterilerin tüketimi için ideal taşıyıcı sistemler olarak kabul edilmektedir (Cruz vd., 2012c; O'Toole vd., 2017).

Bunun yanı sıra, probiyotik bakterilerin biyolojik sistemlere dahil edilmesi gıdaların işlenmesi sürecindeki sıcaklık, fermantasyon, depolama, ambalajlama vb. aşamalarda hücre canlılığının azalması gibi bir takım zorluklar barındırmaktadır. Probiyotik ürünlerin işlenmesinde sağlık üzerine yararlı etkiyi oluşturan bakteri sayısının depolama süresi boyunca üründe korunması gerekmektedir. Terapötik etkiyi sağlayacak olan yeterli sayıdaki probiyotik bakteri miktarı 10^6 kob/g iken, gastrointestinal sistemden geçiş sırasında probiyotiklerde oluşabilecek azalmayı telafi edebilmek adına günlük

alınması gereken probiyotik bakteri miktarı 10^8 kob/g olarak önerilmektedir (Talwalkar & Kailasapathy, 2004a,b; Figueroa-González vd., 2011; Cruz vd., 2012a).



Şekil 2.3. Probiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki fonksiyonel etkileri (Sharma vd., 2021).

Probiyotik ürünlerde bulunması gereken canlı bakteri sayısına dair birçok ülkede konu ile ilgili yönetmelikler bulunmaktadır. Probiyotik bakteri içeren ürünlerin insan sağlığına olumlu etki gösterebilmesi için çeşitli kurumlar tarafından, probiyotik içeren fermente süt ürünlerde 10^7 kob/g *L. acidophilus* ve 10^6 kob/g *Bifidobacteria* spp. içermesi gerektiği standartlarda belirtilmektedir (Talwalkar & Kailasapathy, 2004b; O'Toole vd., 2017).

Probiyotik bakterilerin mideden bağırsağa geçişi sürecinde canlı bakteri sayısında belli bir miktar azalma ortaya çıkmaktadır. İstenen fonksiyonel etkinin sağlanabilmesi adına mideden bağırsağa geçiş sürecinde oluşabilecek bakteri kaybı ve raf ömrü süresince oluşabilecek bakteri sayısındaki düşüşler de göz önünde bulundurularak ürün

içerisindeki probiyotik bakteri miktarının 10^8 kob/mL ya da kob/g olması istenmektedir. Böylelikle ürünün son kullanım tarihinde dahi minimum bakteri sayısının 10^6 kob/mL olması önerilmektedir (Talwalkar & Kailasapathy, 2004b).

Probiyotik bakterilerin gıdalara ilave edilmesi için kullanılacak probiyotik suşların gıda endüstrisinde kullanılan teknolojik uygulamalara karşı dirençli olmaları gerekmektedir. Ancak birçok probiyotik suşun bu teknolojik uygulamalara karşı dirençlerinin düşük olması probiyotik bakterilerin gıda ürünlerine işlenebilirliğini sınırlandırmaktadır. Endüstriyel strese dayanıklı olan suşlar yapılan birçok çalışmada tanımlanmıştır (Sánchez vd., 2009; Ruiz vd., 2012).

Lactobacillus ve *Bifidobacteria* cinsi mikroorganizmalar, insan orijinli probiyotikler olarak en yaygın kullanılan ve insanların tüketimi için güvenli olarak sınıflandırılan anaerobik organizmalardır (Mogensen, 2002; Snydman, 2008). Probiyotik mikroorganizmalar karbonhidratları fermente ederek bütirik asit, propiyonik asit, asetik asit ve laktik asit gibi metabolitleri ya da kısa zincirli yağ asitlerini oluşturarak (KZYA) ve diğer proteolitik etkileri ile de metabolomik etki göstermektedir (Chukwu vd., 2014; O'Connell, 2020). Bilinen terapötik etkileri ile, daha çok *L. acidophilus* ve *B. animalis* spp. *lactis* probiyotik bakterilerinin işlenmiş olduğu endüstriyel süt ürünlerinin sayısı giderek artmaktadır. Bunun yanı sıra *L. casei, L. paracasei, L. rhamnosus, L. brevis, B. bifidum* ve *B. infantis* gibi bakteriler de fonksiyonel ürünlerde kullanılmaktadır (O'Toole vd., 2017).

Lactobacilli cinsi mikroorganizmalar, gram pozitif, spor oluşturmayan, anaerobik, katalaz ve oksidaz negatif laktik asit bakterileridir. Fermente gıda ürünlerinde geniş bir kullanım alanı olan bu probiyotik bakterilerin antibiyotik toleransı, safra toleransı, mide sıvısı direnci ve laktik asit üretimi gibi özelliklere sahip oldukları bilinmektedir (Hoque vd., 2010; Chukwu vd., 2014).

Bifidobacteria cinsi mikroorganizmalar; gram pozitif, spor oluşturmayan, hareketsiz, bazı suşları karbondioksit varlığında oksijene toleranslı olabilmesine rağmen genellikle anaerobik olan bakterilerdir (Ray, 2004; Chukwu vd., 2014). Fonksiyonel etkilerinden

bahsedilen bu probiyotik bakteriler, insan yaşamı boyunca erken bebeklik döneminden yaşlılığa kadar bağırsak mikrobiyotasında baskın olan anaerobik bakteriler arasında yer almaktadır. *Bifidobacterium* cinsi bakteriler günlük diyet ile alındığında vücuttaki patojenik bakterilere karşı bir savunma sistemi oluşturmakta ve antimikrobiyal etki göstermektedir (Kirjavainen vd., 2001; Aloisio vd., 2012). *B. breve* ve *B. longum* probiyotik suşlarının yeni doğanlarda sinir sistemi ile ilgili bozuklukların tedavisinde kullanılabileceği ve psikobiyotik etkisi yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (Chukwu vd., 2014).

Farklı cins probiyotik bakterilerin bir arada kullanılması ile birlikte oluşturulan simbiyotik sistemlerde sinerjik etki elde edilebilmektedir. Birçok *Bifidobacterium* türünün diğer laktik asit bakterileri ile birlikte kullanıldığı ve probiyotik özelliklerinin incelendiği *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar bulunmaktadır (Masco vd., 2005).

Probiyotik bakterilerden beklenen fonksiyonel faydanın sağlanabilmesi için ürünün içermesi gereken canlı bakteri sayısının arttırılması çalışmaların odağını oluşturmaktadır. Probiyotik bakteri içeren süt ürünlerinde terapötik etkinin sağlanabilmesi için gereken miktardaki canlı bakterinin depolama süresince korunmasındaki teknolojik zorlukların başında raf ömrü süresi boyunca oksijene maruz kalma sonucu oluşan oksidatif stres gelmektedir. Yapılan birçok çalışma ile ürünün bakteri sayısındaki azalmaya sebep olacak başlıca nedenler arasında oksijen toksisitesine bağlı hücre ölümü gösterilmektedir. Ürünün oksijene maruz kalması ile birlikte hücre inaktivasyonu gerçekleşmekte ve istenen fonksiyonel etki sağlanamamaktadır (Talwalkar & Kailasapathy, 2003; Sokol vd., 2008).

Depolama süresince oluşan bu oksidatif stres göz önüne alındığında, probiyotik bakterilerin gıdalara dahil edilmesi ve raf ömrü süresince uygun koşullarda depolanması canlı probiyotik sayısını önemli ölçüde etkilemektedir. Üründe oksidatif stresi etkileyen faktörlerin değişimi ile bağlantılı olarak canlı probiyotik bakteri sayısı ve oluşan metabolitler de etkileneceği için ürünün metabolomik etkisi değişecektir. Bu sebeple ürün amabalaj malzemesinin seçimi gibi birçok içsel ve dışsal faktörün oksidatif stresi etkileyeceği, dolayısıyla ürünün fonksiyonel etkisini de değiştirebileceği bilinmektedir.

Yapılan çalışmalarda da probiyotik içeren gıdalarda seçilen ambalaj malzemelerinin ve saklama koşullarının probiyotik bakterilerin canlılığı açısından önemli birer faktör olduğu bildirilmiştir. Probiyotik bakterilerin eklendiği ürünlerde oksidatif stresi azaltmak adına oksijeni azaltan bazı bileşiklerin ilavesi, bakteri gelişiminin prebiyotikler ile desteklenmesi ve uygun amabalaj materyallerinin seçimi alternatif çözümler olarak belirtilmektedir (Mattila-Sandholm vd., 2002; da Cruz vd., 2007; Cruz vd., 2012c; Altınkaynak ve Özcan, 2021).

2.2. Probiyotik Bakterilerin Gelişimi ve Oksidatif Stres

Gıdaların pek çoğunun oksijene maruz kalması, bozulma başta olmak üzere üründe istenmeyen birçok değişim ortaya çıkarabilmektedir. Örneğin yüksek yağ içeriğine sahip ürünlerde oksijen içeriği ile birlikte oluşan lipid oksidasyonu bozulma ve acı tat oluşumuna sebep olmaktadır (Wong vd., 2008). Fermente birçok üründe de aynı durum söz konusudur ve ileri fermantasyon şekillenebilmektedir. Oksijenin sebep olabileceği bu etkileri azaltabilmek için ürünün oksijene olabildiğince daha az maruz kalmasını sağlamak gerekmektedir. Böylelikle aroma, tat ve fonksiyonel etkinin kaybının önüne geçilebilmektedir (Wong vd., 2008).

Ambalajlı gıdalarda oksijen geçirgenliği, istenmeyen bakteriyel gelişimi arttırdığı gibi, aynı zamanda oksijenin varlığı gıdalarda enzimatik olmayan esmerleşmelerde de rol oynamaktadır. Tüm bu sebeplerden dolayı endüstriyel gıda üretiminde, ürünün işleme ve depolanması sırasında maruz kaldığı oksijen miktarı minimum seviyede tutulmaya çalışılarak, üründe bakteriyel gelişim ve tat/aroma kaybı gibi kalitesini olumsuz etkileyecek oluşumların önüne geçilmek istenmektedir (Kirk vd., 2002; Wong vd., 2008).

Hücrede oksidatif stres, süperoksit iyonu veya hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) etkisiyle oluşmaktadır. Oluşan bu oksidatif stres anaerob özellik gösterdiği bilinen probiyotik bakterilerin canlılığı açısından da öneme sahiptir (Cruz vd., 2013). Oksijenin anaerobik mikroorganizmaların fizyolojisi üzerindeki zararlı etkileri reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu oksidatif hasar nedeniyle ortaya

çıkmaktadır. Antioksidatif enzimlerin kullanımı ile oksijenin toksik etkisinden anaerob bakterileri korumak mümkün olabilmektedir (Ruiz vd., 2012).

Probiyotik özellikleri bilinen *L. acidophilus* ve *B. animalis* spp. *lactis* suşlarının bulunduğu süt ürünlerindeki bakterilerin canlılığını ve gelişimini, ürünün pH'sı, hidrojen peroksit, laktik asit, asetik asit gibi metabolitlerin konsantrasyonu, çözünmüş oksijen konsantrasyonu ve süt matriksinin bileşimi gibi faktörler etkilemektedir. Bu etmenler ile birlikte probiyotik bakterileri içeren ürünlerde bakterilerin canlılığı için özellikle üretim ve depolama sırasındaki çözünmüş oksijen seviyesi de oldukça önemli olmaktadır (Talwalkar & Kailasapathy, 2004b; Champagne vd., 2018).

L. acidophilus ve *B. animalis* spp. *lactis* türleri insan bağırsağından izole edilen mikroaerofilik ve anaerobik mikroorganizmalardır. Oksijeni tamamen indirgeme yeteneğine sahip aerobik bakterilerin aksine, anaerobik ve mikroaerofilik bakterilerde oksijen tutucu bir sistem çok azdır veya hiç bulunmamaktadır. Bu bakterilerde elektron taşıma zincirinin olmaması, oksijenin hidrojen peroksite yetersiz indirgenmesine neden olmaktadır. Buna ilaveten, bu bakteriler, hidrojen peroksitin parçalanması ile görevli enzim olan katalaza sahip olmadıkları için hücrede toksik etkiye sahip olan hidrojen peroksit birikmesi başlamaktadır. Böylelikle, bakterilerin oksijene maruz kalması, hücrede süperoksit anyonu, hidroksil radikali, hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi toksik bileşenlerin birikmesine neden olmakta ve ilerleyen bu süreç hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır. Bu durum oksijen toksisitesi olarak isimlendirilmektedir (Cruz vd., 2007).

Probiyotik bakterilerde oksijen toksisitesinin önlenebilmesi için bakterinin maruz kalacağı oksijen miktarının ve gelişen metabolik, biyokimyasal değişikliklerin kontrol altında tutulması gerekmektedir (Talwalkar & Kailasapathy, 2004a,b). Yapılan birçok çalışma sonucunda *Bifidobacterium* suşlarının farklı suşlarında farklı seviyelerde H_2O_2 ve oksijen toleransının bulunduğu belirtilmektedir (Talwalkar & Kailasapathy, 2004b).

Ortamda oksijen varlığının probiyotik bakterilerin canlılığını olumsuz olarak etkilediği yapılan çalışmalarda belirtilmesine rağmen Dave & Shah (1997) tarafından yapılan bir araştırmada 35 günlük raf ömrü sonunda *Bifidobacterium* türlerinin üründeki oksijen

içeriği ve redoks potansiyeline rağmen hayatta kalabildiği saptanmıştır. Benzer şekilde Miller vd. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada probiyotik bakteri inoküle edilmiş yoğurtta, raf ömrü süresince ürün içerisindeki oksijen miktarının istikrarlı bir şekilde artmasına rağmen, raf ömrü sonunda 10^6 kob/mL canlı *Bifidobacterium* sayısı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, depolamanın üçüncü haftasında ise *L. acidophilus* sayısının 10^3 kob/mL seviyesinin altına düştüğü belirtilmiştir.

Talwalkar vd. (2004b) tarafından yapılan başka bir çalışmada çözünmüş oksijen seviyesinin probiyotik bakterilerin canlılığı üzerine etkisini incelemek için oksijene adapte edilmiş ve oksijene adapte edilmemiş *L. acidophilus* ve *B. infantis* suşlarının depolama süresi boyunca canlılıkları araştırılmıştır. Depolama süresi boyunca üründeki oksijen konsantrasyonun giderek artmasına rağmen, konsantrasyondaki bu artış ile *L. acidophilus* ve *B. infantis*'in oksijene adapte edilmemiş olan canlı hücre sayılarında herhangi bir azalmaya neden olmadığı, diğer faktörlerin ve gıda sisteminin gelişimde etkili olabileceği belirtilmiştir. Normal şartlarda anaerob ortamda gelişim gösterebilen *Bifidobacterium* türlerinin, ürünün raf ömrü süresince oksijen ile temas etmesine rağmen aktivite gösterebilmesinin suşa bağlı oldu saptanmıştır.

Probiyotik bakterilerin ilave edildiği fonksiyonel gıdaların üretim ve depolama süreçlerinde oksijene maruz kalması ile ürünün içerdiği bakteriler için aerobik ortam oluşmakta ve anaerob özellik gösteren probiyotik bakterilerin canlılığı olumsuz olarak etkilenebilmektedir. Bu sebeple oluşacak olan oksijen toksisitesine karşı fonksiyonel etkiyi koruyabilmek için kullanılacak olan suşların oksijene toleranslı ve mikroaerofilik suşlar olması endüstriyel üretim için istenilen bir özelliktir (Ruiz vd., 2012).

Anaerobik ve mikroaerofilik probiyotik suşların kullanıldığı probiyotik ürünlerde, ürüne temas eden oksijen seviyesi, üründe kullanılan paketleme materyali ve ürün depolanması sırasında paket içindeki oksijen seviyesi probiyotik bakterilerin yaşamı açısından önem taşımaktadır. Özellikle *B. bifidum* ve *L. acidophilus* suşlarının çözünmüş oksijene maruz kaldığında toksik etkinin oluşabileceği Cruz vd. (2007) tarafından belirtilmiştir.

B. animalis subsp. *lactis* oksijene en çok tolerans gösteren suşlardan bir tanesidir. Diğer *Bifidobacterium* türlerine göre oksijen, asidik ortam ve sıcaklık gibi ortam şartlarının stresine daha iyi direnç gösterebildiği için süt ürünlerinde yaygın olarak kullanılan *Bifidobacterium* türlerindendir (Ruiz vd., 2012). Yapılan çalışmalarda *B. animalis* gibi türlerin aerotolerant olduğuna (Beerens vd., 2000; von Ah vd., 2007) ve hatta *B. psychraerophilum* gibi suşların oksijen varlığında katı agar ortamının yüzeyinde koloniler oluşturabildiğine dair çalışmalar bulunmaktadır (Simpson vd., 2004; Ruiz vd., 2012). Bu özelliği sayesinde *B. lactis* insan gastrointestinal sistem koşullarına ve işlendiği gıda ürünün içerik ve işleme şartlarına da dayanıklılığı ile en yaygın kullanılan *Bifidobacterium* türlerinden biri olarak görülmektedir (Ruiz vd., 2012).

Miller vd. (2002) yaptıkları çalışmada, ticari yoğurdun depolama süresi boyunca çözünmüş oksijen seviyesini değerlendirmişlerdir. Belirlenen ürünün üretim hattında yüksek etkili polietilen ambalaj ile paketlemesi yapıldıktan hemen sonra çözünmüş oksijen seviyesi ölçülmüş ve raf ömrü boyunca 42 gün süreyle haftalık olarak ölçümler yapılmaya devam edilmiştir. İnceleme sonucunda raf ömrü süresince çözünmüş oksijen seviyesinde devamlı artış olduğu saptanmıştır. Üretim gününde yapılan ilk ölçümde 20 ppm olarak ölçülen oksijen seviyesi, raf ömrü sonunda 50 ppm olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda ürün içerisindeki çözünmüş oksijen dağılımının homojen olmadığı, kabın alt ve köşe kısımlarında daha yüksek seviyede oksijen bulunduğu, yoğurdun iç kısımlarında oksijen seviyesinin daha düşük değerlerde kaydedildiği çalışmada belirtilmiştir. Çalışma sonucunda tüm bu durumların anaerobik ve mikroaerofilik olan *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* subsp. türlerinin raf ömrü süresince canlılığını olumsuz etkilediği sonucuna varılmıştır.

Sütün fermantasyonunda önemli bakterilerden biri yoğurt oluşumunda etkili olan *Streptococcus thermophilus*'tur. Fakültatif anaerob olarak aktivite gösteren *S. thermophilus*'un sütteki laktozu laktik aside fermente etmesi için ortamda oksijen varlığı gerekmektedir. Gerekli oksijen, ticari yoğurt üretimi sırasında homojenizasyon, pastörizasyon sonrası soğutma ve starter aşılama sırasında sağlanmaktadır. Ortama dahil edilen oksijen süt içerisinde kolaylıkla dağılabilmektedir ve böylelikle var olan oksijen *S. thermophilus* tarafından kullanılmaktadır. Fakültatif anaerob *S. thermophilus* ile birlikte simbiyotik olarak ürüne ilave edilmiş olan diğer anaerob bakterilerin ortamda

varlığı halinde, oksijenin çoğunluğu *S. thermophilus* tarafından kullanılırken, *S. thermophilus*'un kullanacağından fazla miktarda oksijenin varlığı, bu anaerob bakterilerin canlılığını olumsuz olarak etkileyebilmektedir (Miller vd., 2003; Talwalkar & Kailasapathy, 2004a,b).

Endüstriyel olarak üretilen yoğurdun genellikle polietilen veya yüksek etkili polistiren kaplara paketlemesi yapılmaktadır. Yoğurdun ambalajlanması sırasında da ürün oksijene maruz kalabilmektedir. Aynı zamanda ambalaj malzemesinin dayanıklılığı ve oksijen geçirgenliğine bağlı olarak depolama süresi boyunca oksijen ürün matriksine dahil olmaya devam etmektedir. Probiyotik süt ürünlerinde ürünün maruz kaldığı oksijen seviyesi ve ambalaj metaryalinin oksijen geçirgenliğinin *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsi probiyotik bakterilerin canlılığını yüksek oranda etkilediği ve bunun yine de suşa bağlı olduğu düşünülmektedir (Talwalkar & Kailasapathy, 2004a).

Yapılan çalışmalarda raf ömrü süresince yoğurt içerisindeki probiyotik bakterileri oksijen toksisitesinden korumak için uygulamalar;

- Anaerobik probiyotik bakterilerin oksijeni tüketen *S. thermophilus* gibi suşlar ile birlikte ürüne işlenmesi
- Ürün içerisine probiyotik bakteri ilavesi ile birlikte oksijen tutucu olarak askorbik asit ve L-sistein gibi katkıların ilavesi
- Mikroenkapsülasyon yöntemi ile probiyotik bakterilerin oksijen toksisitesi gibi olumsuz şartlardan korunması
- Probiyotik mikroorganizmaların kademeli olarak oksijene maruz bırakılarak oksidatif strese adaptasyonu
- Ambalajlama materyali seçiminde oksijen geçirgenliğinin göz önünde bulundurulması
- Enzimatik uygulamalar (Talwalkar & Kailasapathy, 2004a; Altınkaynak & Özcan, 2021).

Oksijenin toksik etkisinin, hücreler optimal standartlarında aktivite gösterdiklerinde maksimum düzeyde olduğu bilinmektedir. Bu durumda *L. acidophilus* ve

Bifidobacterium spp. suşlarının oksijene en çok 37 °C'de ve substratlarının bulunduğu ortamda duyarlı olmaları beklenmektedir. Ancak yoğurt gibi fermente süt ürünlerinin, probiyotik bakterilerin gelişim sıcaklığının altında olan 6-8 °C arasında depolandığı düşünülürse depolama sırasında probiyotik suşlar oksijene maksimum duyarlılıkta değillerdir ve bu da ayrı bir koruma mekanizması oluşturmaktadır (Talwalkar & Kailasapathy, 2004).

Sütün fermantasyonu sırasında probiyotik bakteriler 35-43 °C sıcaklıklara maruz kalsa da, bu aşamada *S. thermophilus*'un yüksek oksijen tüketimi bu bakterilerin oksijen duyarlılığını önemli ölçüde azaltmaktadır. Böylelikle ortamdaki oksijen *S. thermophilus* tarafından tüketildiği için, optimal gelişme koşullarına sahip olan probiyotik suşların oksijenin toksik etkisine maruz kalmadıkları ön görülmektedir (Miller vd., 2002). Bununla birlikte yoğurt jeli içinde tutulan oksijenin yavaş ve düzensiz difüzyonu probiyotik bakterilerin oksijene eşit şekilde maruz kalmamalarına sebep olabilmekte ve probiyotik bakterilerin oksijen toksititesine duyarlılığını etkileyebilmektedir (Talwalkar & Kailasapathy, 2004).

L. acidophilus ve *Bifidobacterium* suşları için; ilave edildikleri ürün içerisindeki oksijen, kullanılan starter kültürler, yoğurttaki yağ içeriği, laktik asit konsantrasyonu, pH seviyesi ve substrat varlığı gibi çeşitli faktörler ile bakterilerin canlılıklarını etkilemektedir. Probiyotik bakterilerin oksijene maruz kalması bu etmenlerden sadece bir tanesi olsa da diğer faktörlerin değişkenliğine bağlı olarak yoğurt içerisinde bakteri canlılığının önemli ölçüde farklı olabileceği de öne sürülmektedir (Champagne vd., 2018; Altınkaynak & Özcan, 2021).

Ortamdan oksijeni uzaklaştırmakla görevli olduğu bilenen NAD-oksidaz ve NADH-peroksidaz gibi enzimlerinin arasındaki korelasyon, fermente süt ürünlerinde probiyotik türlerin geliştirilmesi için önemli olan bir diğer özelliktir. Oksijene toleransı olduğu bilinen türlerde bu enzimlerin yüksek oranda bulunduğu yapılan çalışmalarda saptanmıştır (Roy, 2005; Cruz vd., 2007).

Probiyotik bakterilerdeki NADH oksidaz aktivitesi, hidrojen peroksit seviyesini arttırmakta, NADH peroksidazın hidrojen peroksiti uzaklaştırmasını sağlamakta ve

böylelikle hücre ölümünün önüne geçilmektedir (Talwalkar & Kailasapathy, 2004b). Shimamura vd. (1992) tarafından yapılan bir çalışmada *Bifidobacterium* spp.' nin oksijen duyarlılık seviyeleri araştırılmış ve NADH oksidaz ve NADH peroksidaz enzim seviyelerinin oksijen toksisitesinin önlenmesinde önemli bir rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Yapılan çalışmada oksijene karşı toleransı en çok olan suşlarda yüksek seviyede NADH oksidaz ve NADH peroksidaz enzimlerine rastlandığı belirtilmiştir.

Bazı laktik asit bakterileri, gıdalardaki ROS birikimini azaltabilmekte ve bu nedenle antioksidan mikroorganizmalar olarak kabul edilmektedir. *Bifidobacterium* suşlarında, hücrede NADH oksidaz ve peroksidaz varlığına bağlı olarak bakterinin oksijen toleransının gelişebildiği görülmektedir (Ruiz vd., 2012). Yapılan çalışmalarda probiyotik bakterilerde, özellikle *Bifidobacterium* türlerinin oksijene duyarlılıklarının probiyotik suşuna bağlı olduğu bildirilmektedir (Talwalkar vd., 2001).

Talwalkar & Kailasapathy (2003), yaptıkları çalışmada ortamdaki serbest oksijen miktarı ve probiyotik bakterilerin arasındaki etkileşimi incelemek için *in vitro* ortamda *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* türlerini sırasıyla % 0, 10, 15 ve 21 oksijen içeren tüpler içerisinde geliştirmişlerdir. İncelemesi yapılan her bir suş için farklı oranda oksijen içeren ortamlardaki metabolik tepkimeleri, oksijenin sebep olduğu biyokimyasal değişiklikler ile birlikte hidrojen peroksiti parçalama yetenekleri ve hidrojen peroksite duyarlılıkları araştırılmıştır. Ortamdaki oksijen seviyesinde artışla birlikte *L. acidophilus* suşlarının oluşturdukları laktik asit seviyeleri azalırken *Bifidobacterium* suşlarında ise oluşturdukları laktat-asetat oranında azalma saptanmıştır. % 21 oksijen içeren ortamda % 0 oksijen içeren ortama oranla NADH oksidaz ve NADH peroksidaz aktiviteleri ile suşların hidrojen peroksiti katalize etme yeteneğinin belirli oranda daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte çalışma sonucunda probiyotik suşların hidrojen peroksite karşı duyarlıkları ile oksijen seviyeleri arasında bir bağlantı bulunamamıştır. *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp. suşlarının her ikisinin de pH 5 seviyesinde optimum aktivitede olduğu ve ortamdaki oksijen miktarının değişiminin optimum pH seviyesini etkilemediği sonucuna varılmıştır. Çalışmada *B. infantis* 1912 suşu dışındaki çalışılan tüm probiyotik suşların % 21 oksijen seviyesinde iyi gelişme

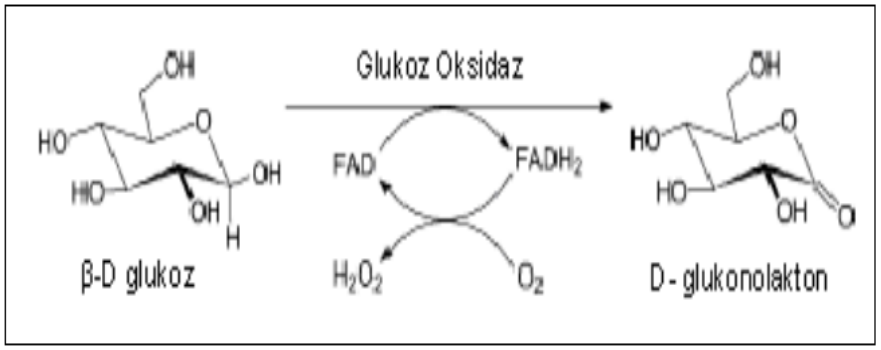
gösterebildiği tespit edilmiştir. *Bifidobacterium* türleri mutlak anaerob olarak sınıflandırıldıkları için bu durum beklenmedik bir sonuç olarak değerlendirilmektedir.

2.3. Glikoz Oksidaz ve Mekanizması

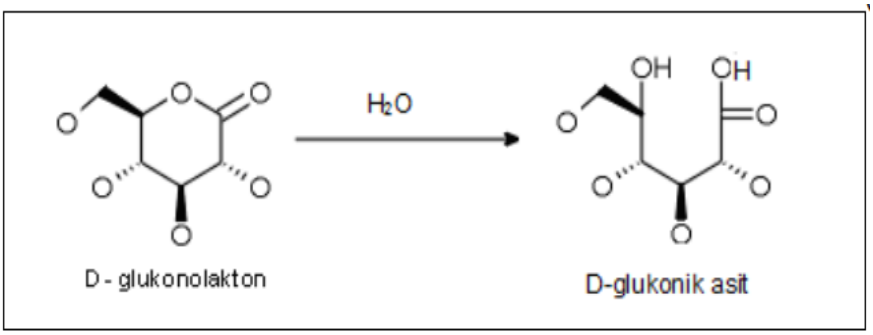
Probiyotik fermente süt ürünlerinde anaerob bakterilerin oksidatif stresini azaltmak için geliştirilen yöntemlerden birisi de ürüne glikoz oksidaz enziminin (GOX) ilave edilmesidir. Glikoz oksidaz ilave edilen süt ürünleri ile yapılan çalışmalarda; depolama süresi boyunca yüksek sayıda canlı bakteri sayısı ile birlikte fizikokimyasal ve duyusal özelliklerde ufak değişimlerin olduğu saptanmış bu da enzim ilavesinin teknolojik olarak uygulanabilirliğini ortaya koymuştur (Cruz vd., 2010; Cruz vd., 2012a; Cruz vd., 2012b; Cruz, vd., 2012c; Cruz vd., 2013).

Endüstride glikoz oksidaz enziminin kullanımı yeni bir konu olması ile birlikte, glikoz oksidaz enziminin oksidatif stresi azaltarak anaerob bakteri gelişimini desteklemesi amacıyla fermente süt ürünlerinde kullanımına dair yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır (Altınkaynak & Özcan, 2021).

Glikoz oksidaz enzimi mekanizmasında enzim, β-D-glikoz'dan D-glucono-δ-lakton'u katalize ederek hidrojen peroksit üretmektedir. Oluşan ürün ise eş zamanlı olarak enzimatik olmayan yolla D-glikonik aside hidrolize olmaktadır (Şekil 2.4, Şekil 2.5) (Kornecki vd., 2020).



Şekil 2.4. D-glukozdan D-glukonolakton oluşumu (İçli, 2008)

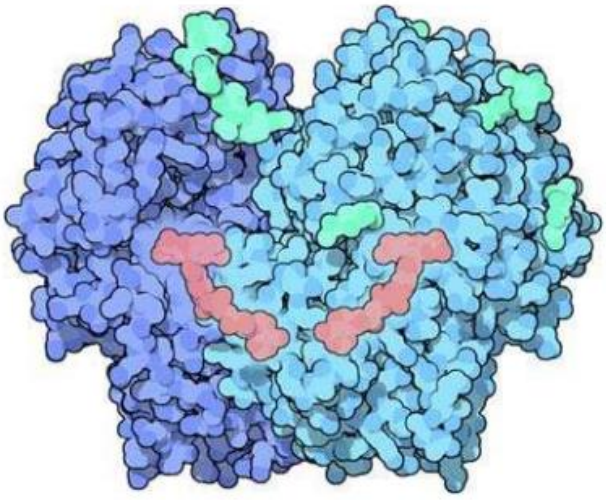


Şekil 2.5. D-glikonolaktondan su varlığında glikonik asit oluşumu (İçli, 2008)

Glikoz oksidaz enzimi ilk kez Muller (1928) tarafından *Aspergillus niger* ekstraktından elde edilmiştir. *Aspergillus niger*'den elde edilen glikoz oksidaz enzimi, iki FAD koenzimi ile birbirine bağlı iki özdeş 80-kDa alt birimden oluşan, glikoprotein yapıda bir enzimdir. Bu yapıdaki glikoz oksidaz enziminin kinetiği pin-pon mekanizması ile tanımlanmaktadır (Şekil 2.6) (İçli, 2008). Bu reaksiyon sırasında FAD koenzimi elektron taşınmasından sorumludur (Wilson & Turner, 1992). Enzimin *Aspergillus niger*'den elde edilen en yaygın formu ise ağırlıkça yaklaşık %20 amino şeker, %16-19 karbonhidrat içermektedir (Wong vd., 2008).

Birçok mikroorganizmanın glikoz oksidaz enzimini ürettiği bilinmektedir. Ancak enzimin üretimindeki dikkat edilen ana unsur glikoz oksidaz ile birlikte katalitik reaksiyon gösteren ve antibakteriyel, antifungal özellikleri olan hidrojen peroksit üretiminin de sağlanabilmesidir. Enzimin ticari üretiminde ise *Aspergillus* ve *Penicillium* küf türleri kullanılmaktadır. Bu iki mikroorganizma tarafından üretilen enzimler ise GRAS olarak sınıflandırıldığı için insanlar tarafından tüketiminde herhangi bir risk taşımamaktadır (Kornecki vd., 2020).

Glikoz oksidaz enzimi genellikle pH 4-5 arasında izolektrik noktaya, pH 4-7 arasında ve 40-50 °C sıcaklığında optimal aktiviteye sahip bulunmaktadır (Kornecki vd., 2020). Enzim, monosakkaritleri, nitroalkanları ve hidroksil bileşiklerini oksitleme yeteneği de göstermektedir (Wilson & Turner 1992).

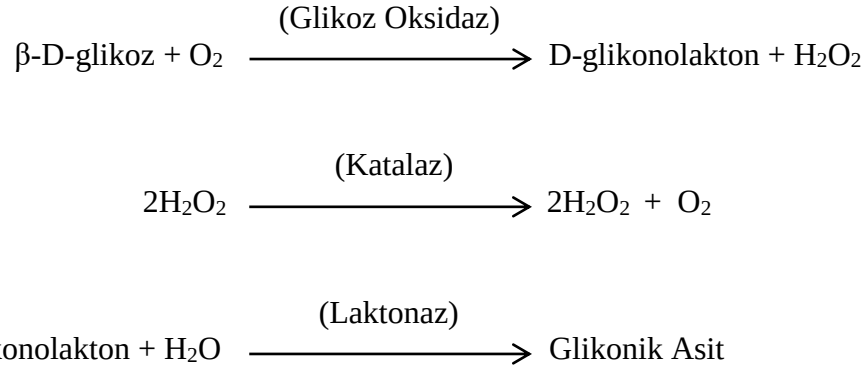


Şekil 2.6. Glikoz oksidaz-FAD enzim koenzim yapısı (Goodsell, 2006)

Bazı küf mantarları ve böceklerde doğal olarak bulunan glikoz oksidaz enzimi, katalitik yan ürünü olan hidrojen peroksit sayesinde antibakteriyel ve antifungal etki göstermektedir. Glikoz oksidaz enzimi endüstriyel olarak birçok uygulamada yer almaktadır. Enzim temel olarak oksijeni uzaklaştırıp hidrojen peroksit üreterek gıdalarda bir anlamda koruyucu olarak işlev görmektedir. Aynı zamanda gıda endüstrisinde fırıncılık, kuru yumurta tozu üretimi, şarap üretimi ve glikonik asit üretimi gibi alanlarda da kullanılmaktadır (Wong vd., 2008; Altınkaynak & Özcan, 2021).

Glikoz oksidaz enziminin istenilen antibakteriyel ve antifungal etkiyi gösterebilmesi için mili molar seviyede hidrojen peroksit varlığının yeterli olabileceği bilinmektedir. Aynı zamanda fazla miktarda hidrojen peroksit birikmesi ise glikoz oksidaz enziminin inaktivasyonuna sebep olabilmektedir. Glikoz oksidaz enziminin varlığında, reaksiyon sonucu oluşan hidrojen peroksit seviyesi, enzimin içerdiği katalaz sayesinde belirli oranda yıkılmakta ve istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engelleyecek seviyede tutulmaktadır. Böylelikle glikoz oksidazın göstermiş olduğu katalitik aktivite sayesinde reaksiyon sonucu açığa çıkan hidrojen peroksitin düşük seviyede tutulması gerektiği yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (Wong vd., 2008).

Glikoz oksidaz enzimi reaksiyonunda; beta-D-glikozun, D-glikonolakton ve hidrojen peroksite oksidasyonunu katalize etmesi sonucu oluşan ürünlerin her ikisi de kendiliğinden parçalanmaktadır. Hidrojen peroksitin katalize reaksiyonu yeteri düzeyde olmadığında ve ortamda hidrojen peroksit birikmesi durumunda enzim aktivitesi azalmaktadır. D-glikonolaktonun parçalanması sonucu ise glikonik asit ($C_6H_{12}O_7$) birikmekte ve çözeltinin pH'sını düşürmektedir. Oluşan son ürünlerden her ikisi de (glikonik asit ve hidrojen peroksit) glikoz oksidaz enzim aktivitesinin düşmesine neden olmaktadır (Wong vd., 2008).



Şekil 2.7. Glikoz oksidaz enzimi reaksiyonu (Wong vd., 2008)

Glikoz oksidaz enzimi reaksiyonu sonucunda oluşan hidrojen peroksit ile bazı patojenlerin veya bakteriyel enfeksiyonların etkisinin azaltılmasının amaçlandığı çalışmalar bulunmaktadır. Ancak hidrojen peroksitin antibakteriyel etkilere sahip olmasının yanı sıra bazı olumsuz etkilerinin de olduğu belirtilmektedir. Ağırlığının % 47'si oksidan maddelerden oluşan hidrojen peroksitidin katalize olmasıyla oksijen ve su açığa çıkmaktadır. Hidrojen peroksidin elektrokimyasal potansiyeli nedeniyle, glikoz oksidazın biyosensör olarak kullanıldığı birçok uygulama için hidrojen peroksitin önemi vurgulanmaktadır (Kornecki vd., 2020).

Glikoz oksidazdan D-glikonik asit üretildiği reaksiyonda, fazla miktarda hidrojen peroksit üretimi glikoz oksidaz enzim inaktivasyonuna sebep olabildiği için hidrojen peroksit konsantrasyonun reaksiyon sırasında azaltılması gerekmektedir. Hidrojen peroksit, glikoz oksidaz enzim stabilitesine zarar verdiği için katalaz enzimi ile hidrojen

peroksidin ortamdan uzaklaştırılması mümkün olabilmektedir. Katalaz enzimi ile hidrojen peroksit su ve oksijene parçalanmaktadır (Kornecki vd., 2020).

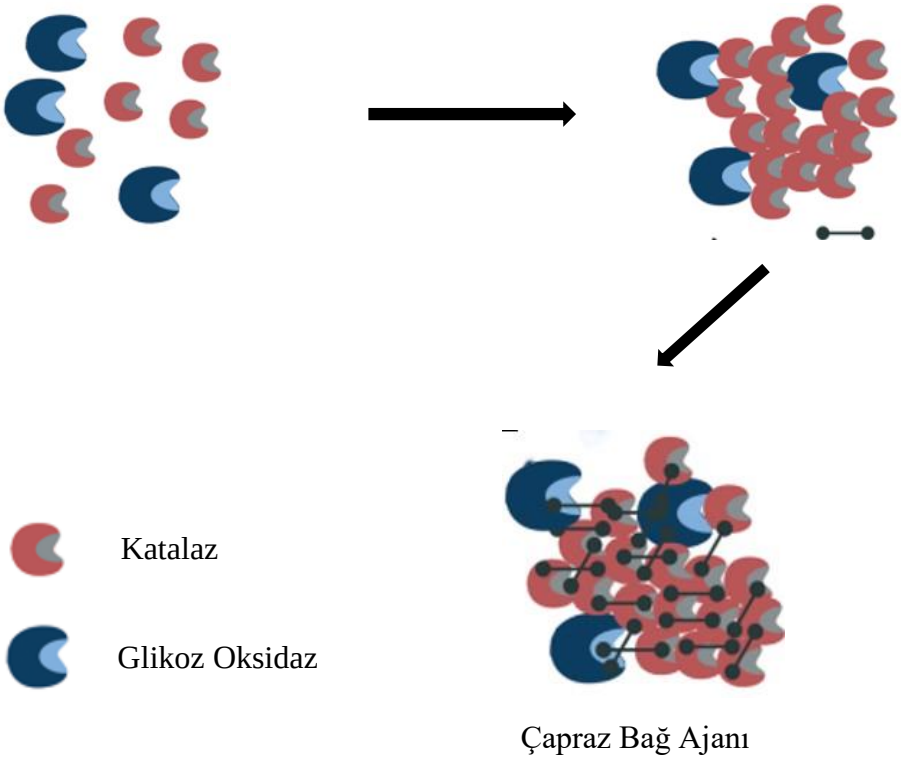
Glikoz oksidaz enziminin gıda endüstrisinde bulk, sıvı veya toz formda katkı maddesi olarak kullanımı bulunmaktadır. Aynı zamanda antioksidan, koruyucu ve stabilize edici etkiler de göstermektedir. Gıdalarda kullanılan formu ile glikoz oksidaz enzimi aynı zamanda katalaz enzimi de içermektedir (Altınkaynak & Özcan, 2021).

Glikoz oksidaz enzim aktivasyonu üzerine yapılan çalışmalarda, yüksek oranda hidrojen peroksit üretme kapasitesine sahip olan glikoz oksidaz enzimi genellikle, katalaz enzimi ile birlikte serbest veya immobilize formda kullanılmaktadır. Bu iki enzimin birlikte immobilete olarak kullanımında, katalaz yüksek oranda oluşan hidrojen peroksiti parçalayarak enzimin hidrojen peroksite daha az maruz kalmasını sağlamakta ve böylelikle enzim stabilitesinin olumsuz olarak etkilenmesinin önüne geçilmektedir. Bu sebeple katalaz ve glikoz oksidazın birlikte immobilizasyonu, ortamda hidrojen peroksit birikmesini engelleyeceği için glikoz oksidaz enzim aktivasyonunu iyileştirmede önemli bir faktör olarak değerlendirilmektedir. Enzimlerin Şekil 2.8.'de belirtildiği gibi çapraz bağlanması ile immobilizasyon sağlanabilmektedir (Kornecki vd., 2020).

Glikoz oksidaz benzeri enzimler, gıdaların üretiminde amaca uygun reaksiyonları oldukça etkili bir şekilde gerçekleştirdikleri ve kimyasal alternatiflere göre çevre dostu oldukları için gün geçtikçe endüstride önem kazanmaktadırlar (Wong vd., 2008).

Cruz vd. (2012b) tarafından yapılan çalışmada probiyotik yoğurtlara farklı oranlarda (0, 250, 500, 750 ve 1,000 mg/kg) glikoz oksidaz enziminin ilavesi ile oksidatif stresin azaltılması amaçlanmış ve depolama süresi boyunca fizikokimyasal ve mikrobiyolojik değişimler incelenmiştir. Çalışmanın sonunda yüksek konsantrasyonlarda (750 ve 1000 mg/kg) glikoz oksidaz ilavesi yapılan ürünlerde daha uzun depolama ömrü ve karakteristik probiyotik yoğurt özellikleri tespit edilmiştir. 750 ve 1000 mg/kg miktarlarında glikoz oksidaz ilave edilen probiyotik yoğurt ürünlerinde daha iyi asitlik gelişimi, çözünmüş oksijen seviyesinde artış ve daha yüksek seviyede proteoliz saptanmıştır. Glikoz oksidaz ilavesinin oksidatif stresi azaltmasıyla birlikte, yüksek

seviyelerde glikoz oksidaz enzimi ilavesinin ortamda kullanılacak subsrat yetersizliğinden dolayı probiyotik bakterilerin gelişimi için etkisiz olabileceği belirtilmiştir.



Şekil 2.8. Çapraz bağlanma ile katalaz ve glikoz oksidaz enzimlerinin immobilizasyonu (İçli, 2008).

Cruz vd. (2013) tarafından yapılan bir diğer çalışmada glikoz oksidaz ilave edilmiş ve farklı oksijen geçirgenliğine sahip ambalaj materyalleri (0.09, 0.2, 0.39 ve 0.75 mL O_2/gün) ile paketlenmiş probiyotik yoğurtların 28 gün depolama süresi boyunca kimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel ve duyusal özellikleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda daha düşük oksijen geçirgenliğine sahip ambalaj materyalinde depolanan probiyotik yoğurtlarda daha fazla organik asit ve proteolitik aktivite saptanmıştır. Aynı zamanda bu ürünlerde daha az çözünmüş oksijen ve depolama sonunda daha yüksek sayıda probiyotik sayılarına ulaşıldığı ve ilave edilen glikoz oksidazın son üründe herhangi bir aroma değişikliğine yol açmadığı tespit edilmiştir.

Glikoz oksidaz enziminin birçok kanser türünün tedavisinde ve biyosensör olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Enzim, kandaki glikoz konsantrasyonundaki değişimleri izlemek için glikoz biyosensörleri olarak uygulanmaktadır (Kornecki vd., 2020).

Gıdalardaki fazla glikoz ve oksijenin uzaklaştırılması ile raf ömrünün uzatılması amacı için glikoz oksidaz enzimi kullanılmaktadır. Enzimin reaksiyonu sonucu yan ürün olarak üretilen hidrojen peroksitin bakterisit etkisi ile gıdalarda bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişimi engellenmektedir. Benzer şekilde oksijen ortamdan uzaklaştırıldığı için oksidasyon sonucu gıdadaki renk ve aroma kaybı da azaltılmaktadır. Şarap üretimi sırasında glikoz oksidaz enzimi kullanımı ile alkol içeriğinin stabilitesi sağlanmakta, bakterisit etki ile bozulma engellenmekte ve ürünün kalite özellikleri iyileştirilmektedir. Enzimin son ürünlerinden biri olan glikonik asit eldesi için de glikoz oksidaz enzimi kullanılmaktadır. Glikoz oksidaz enzimi reaksiyonu sonu oluşan glikonik asidin en yaygın kullanım alanları et, süt ve fırıncılık ürünleridir. Glikonik asit gıda üretiminde beyazlatıcı ve asitlik düzenleyici olarak ve ayrıca sterilizayon solüsyonlarında veya ilaçların bileşiminde kullanılmaktadır. Glikonik asit ve tuzlarının, minerallerin emilimini artırmak amacıyla gıda takviyelerinde tamponlayıcı tuz olarak kullanımı bulunmaktadır (Ramachandran vd., 2006; İçli, 2008; Altınkaynak & Ozcan, 2021).

Cruz vd. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, glikoz-glikoz oksidaz enzim kompleksinin kullanımı ile üründe çözünmüş oksijen seviyesinin azaltılması ve sonuç olarak *B. longum* sayısının insan sağlığına fayda sağlayabilecek seviyelerde tutulması için alternatif bir çözüm olarak önerilmektedir.

Cruz vd., (2013)'ın yaptıkları çalışmada glikoz oksidazın en düşük miktarda ilavesinin dahi depolama süresi boyunca probiyotik bakteri sayısının korunması üzerine olumlu etkisinin olduğu kaydedilmiştir. Oksijen geçirgenlik seviyesinin arttığı ambalajlama metaryalleri kullanımda da 28 günlük depolama süresi boyunca fonksiyonel etkiyi gösterecek seviyede *B. longum* ve *L. acidophilus* sayıları saptanmıştır.

Granato vd. (2010) tarafından yapılan çalışma sonucunda düşük oksijen geçirgenliğine sahip sistemde ilave olarak glikoz oksidaz enziminin kullanılması ile probiyotik ürünlerde fonksiyonel etkinin geliştirilebileceği sonucu elde edilmiştir.

2.4. Prebiyotikler

Prebiyotikler, "konakçı mikroorganizmalar tarafından seçici olarak kullanılan ve konakçının sağlığına olumlu etkisi olan substratlar" olarak tanımlanmaktadırlar (Gibson vd., 2017).

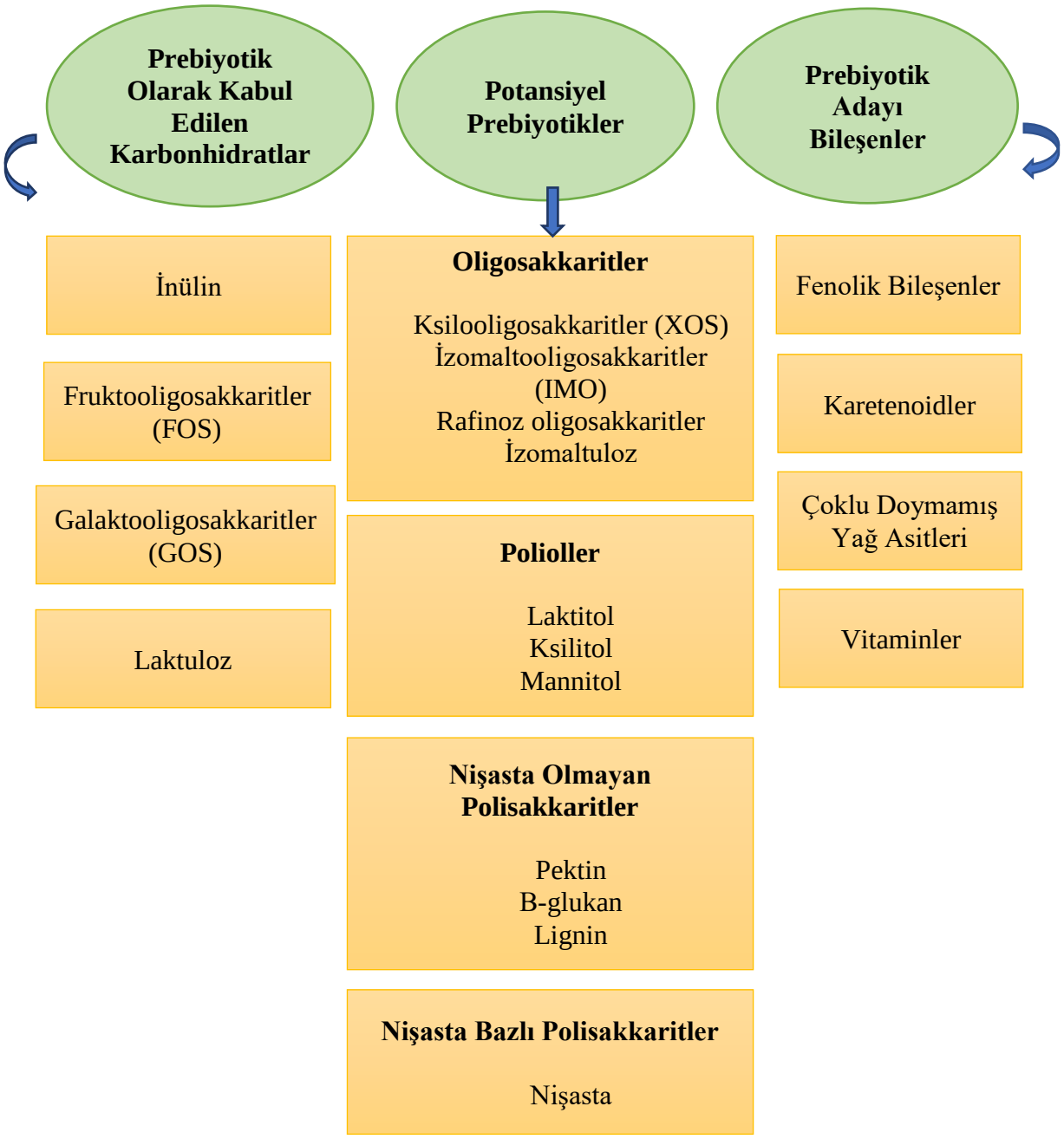
Midedeki asidik ortama ve memelilerin sindirim enzimlerine karşı koyabilme özelliğine sahip olan prebiyotikler bağırsak mikrobiyotası tarafından fermente olabilmektedir. Prebiyotikler bağırsaktaki belirli bakterilerin gelişmesini ve büyümesini teşvik ederek kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA) üretimini sağlamaktadırlar. Bu özellikleri ile prebiyotikler bağırsak mikrobiyal kompozisyonunun değiştirilmesinde önemli rol oynamaktadırlar (Blaak vd., 2020; Xu, 2022).

Prebiyotikler, özellikle laktik asit bakterileri ve *Bifidobacterium* Spp. gibi probiyotik bakterilerin gelişimini destekleyen sindirilemeyen oligosakkaritlerdir (Pujari & Banerjee, 2021). Yaygın olarak kullanılan prebiyotikler fruktooligosakkaritler ve galaktooligosakkaritler olarak sınıflandırılmaktadır (Allgeyer vd., 2010). Prebiyotiklerin büyük bir çoğunluğunun karbonhidrat kaynaklı olduğu bilinmesine rağmen yapılan son çalışmalarda bitkisel ekstraktlar, fenolik bileşikler, karotenoidler, omega-3 ve omega-6 gibi çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve vitaminlerin de prebiyotik potansiyeli olabileceği ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (Şekil 2.9) (Rosa vd., 2021).

Prebiyotiklerin tanımlanabilmesi için;

1- Midenin asidik ortamına ve konakçı enzimleri tarafından hidrolize olmaya dayanıklı olarak gastrointestinal sistemin üst kısmında emilime karşı direnç göstermelidirler
2- Bağırsak bakterileri tarafından fermente edilebilme özelliğinde olmalı ve bağırsak mikrobiyotasının gelişimini seçici olarak uyarabilmelidirler

3- Fonksiyonel etki yaratarak konakçı sağlığına fayda sağlamalıdırlar (Davani-Davari vd., 2019; Pujari & Banerjee, 2021).



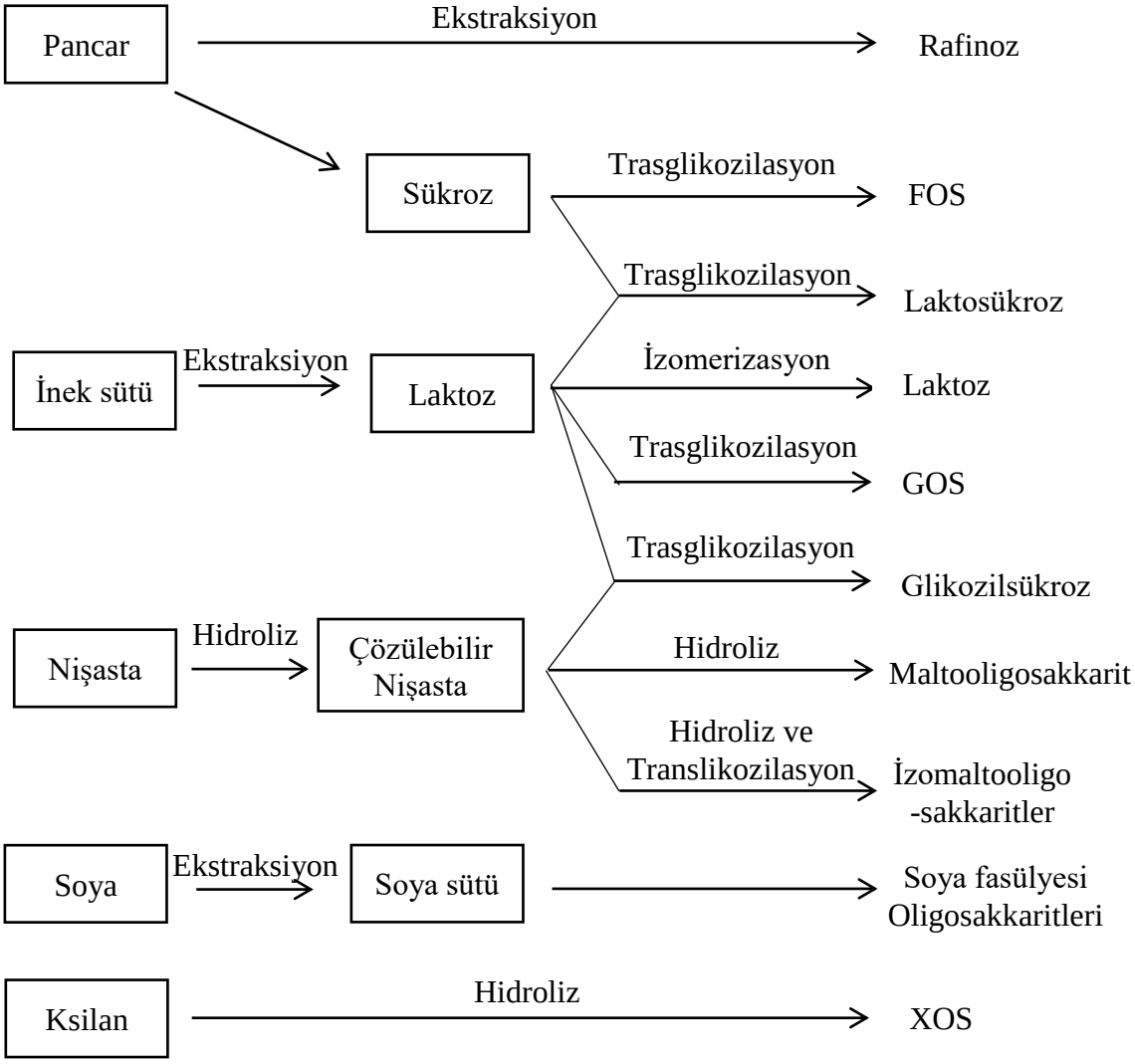
Şekil 2.9. Prebiyotik kaynakları (Pujari & Banerjee, 2021).

Prebiyotikler, bağırsakta fermantasyon sonucu laktik asit ve asetik asit, propiyonik asit, ve bütirik asit gibi kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) vb. organik asitleri oluşturmakta ve bağırsakta Mg ve Ca gibi minerallerin ve vitamin emilimini arttırmaktadır. Bağırsaktaki yararlı mikroorganizmaların gelişimini teşvik ederek mikrobiyotanın modülasyonunu sağlarlar. Prebiyotik etki ise i) bakteriyel popülasyonda değişim, ii) özümseme oranı, iii) prebiyotik aktivite sayısı (PAS) ve iv) KZYA üretimi ile açıklanabilmektedir (Usta vd., 2015; Blaak vd., 2020).

Prebiyotikler, çeşitli konsantrasyonlarda gıdaların bileşiminde bulunmaktadır (Şekil 2.10.). Bu sebeple endüstriyel olarak üretilen prebiyotikler büyük miktarlarda doğal kaynaklardan sentezlenmektedir (Şekil 2.11.). İnsan sütünde dahi bol miktarda bulunan anne sütü oligosakkaritleri (HMO), endüstriyel açıdan önem taşıyan prebiyotik özellikteki oligosakkaritlerin önemli bir kategorisidir. Yeni doğanlar üzerindeki fonksiyonel etkileri iyi bilindiği için bebek mamalarının formülasyonlarında insan sütü oligosakkariti olan bu prebiyotiklere yer verilmektedir. Bu prebiyotikler aynı zamanda vücuttaki patojenlere karşı da etki göstermekte ve böylelikle enfeksiyonları önlemede rol almaktadır. Prebiyotik tüketiminin; yaş, cinsiyet, günlük diyet vb. diğer faktörler ile birlikte, tüm bunlardan bağımsız olarak konakçıya sağladıkları fonksiyonel etkileri klinik çalışmalarla ispat edilmiştir (Şekil 2.12) (Pujari & Banerjee, 2021).

Şekil 2.10. Prebiyotik çeşitleri ve bulundukları doğal kaynaklar (Özyurt & Ötleş, 2014)

Prebiyotik çeşitleri	**Doğal kaynaklar**
Fruktooligosakkaritler	Meyveler ve sebzeler (soğan, muz, sarımsak vb.)
İzomaltooligosakkaritler	Nişasta (buğday, arpa, mısır, pirinç, patates vb.)
Galaktooligosakkaritler	İnsan sütü, inek sütü
Ksilooligosakkaritler	Bambu filizleri, meyveler, sebzeler, süt ve bal
İnülin	Meyveler ve sebzeler (soğan, muz, sarımsak vb.)
Soyaoligosakkaritler	Soya fasulyesi

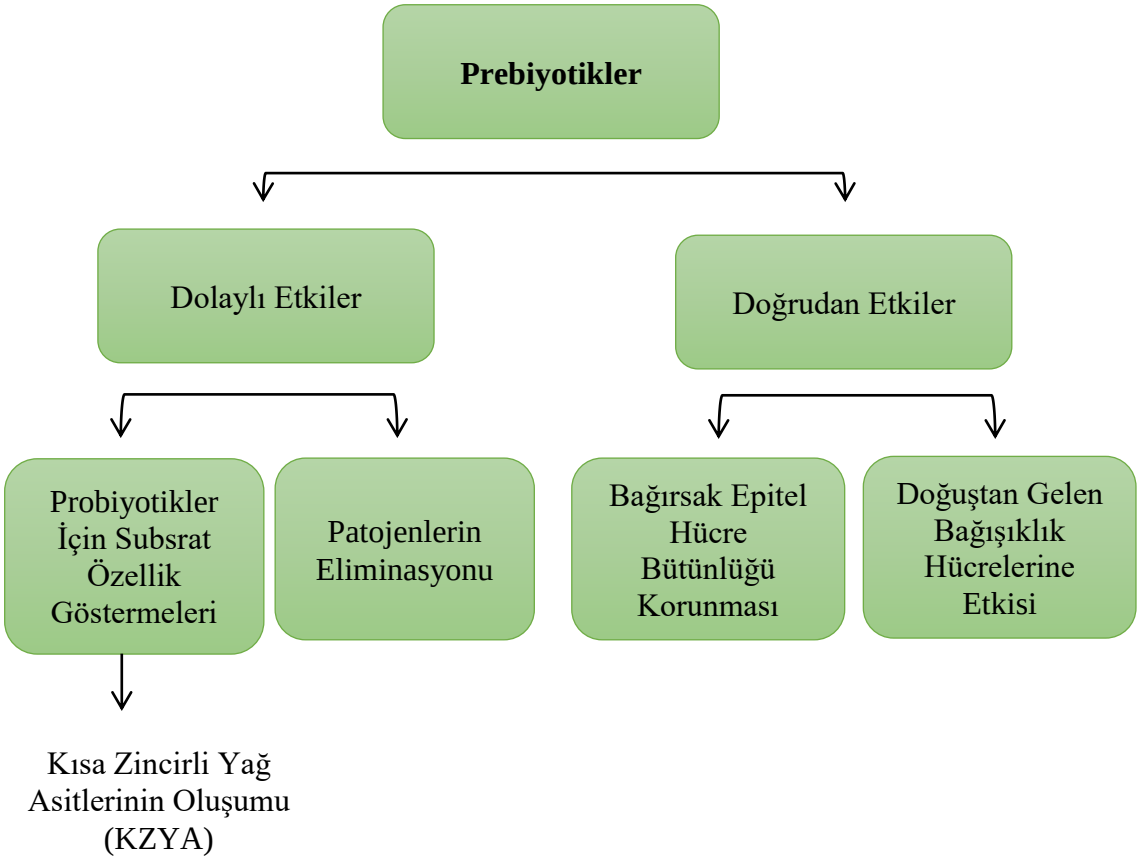


Şekil 2.11. Prebiyotiklerin doğal kaynaklardan elde edilme yöntemleri (Özyurt & Ötleş, 2014)

Prebiyotikler esas olarak karbonhidrat yapısında olup bağırsak mikobiyotası tarafından modüle edilen probiyotik bakteriler tarafından seçici olarak uygun bir substrat olarak kullanılabilen sindirilmeyen besinlerdir. Bağışıklık sisteminin genel işleyişi açısından bağırsak sisteminin etkisi büyüktür. Prebiyotikler ve postbiyotikler bağırsak mikrobiyotasının bileşimini ve konsantrasyonunu etkileyebilmektedir. Postbiyotikler fermantasyon süreci sırasında üretilen biyoaktif bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Malagón-Rojas vd., 2020).

Postbiyotikler, konakta biyolojik aktivite gösteren probiyotik mikroorganizmalar tarafından üretilen canlı olmayan bakteriyel ürünler veya metabolik yan ürünlerdir. Genel olarak postbiyotikler; bakteriyosinler, organik asitler, etanol, diasetil, asetaldehit, biyoaktif peptitler ve hidrojen peroksit gibi bakteriyel metabolitleri içermektedir (Zielińska & Kolożyn-Krajewka, 2018).

Günlük diyette prebiyotik alımı ile birlikte bağırsaktaki bakterilerin çeşitliliği ve konsantrasyonları, bu bakterilerin gerçekleştirdikleri fermantasyon süreçleri ve fermantasyonları sonrasında oluşturdukları metabolitler ile bağışıklık sistemini doğrudan veya dolaylı yoldan etkilemektedir (Malagón-Rojas vd., 2020; Pujari & Banerjee, 2021).



Şekil 2.12. Prebiyotiklerin bağışıklık sistemine etkileri (Pujari & Banerjee, 2021)

Prebiyotiklerin bağırsak sistemine etkileri oluşan metabolitlerin dışında, farklı mekanizmalarla da gerçekleşmektedir. Bağırsakta herhangi bir patojenik istila sırasında ilk aşamada patojenler bağırsak epitel hücrelerine yapışmakta ve sonrasında burada kolonize olmaktadır. Galaktooligosakkaritler, fruktooligosakkaritler, inülin, laktuloz, rafinoz ve pektin oligosakkaritleri gibi yaygın olarak kullanılan prebiyotikler ise patajonlerin epitel hücrelere bağlanma bölgelerindeki reseptörleri taklit ederek patojenlerin bağırsağa tutunmasını engellemekte ve organizmadan atılmasını kolaylaştırmaktadır. Böylelikle bağırsak mikrobiyotasını iyileştirerek konakçıya fonksiyonel etki sağlamaktadırlar (Pujari & Banerjee, 2021).

Yapılan çalışmalar, diyet lifleri, prebiyotikler ve bunların fermantasyonu sonucu oluşan kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA), bağışıklık üzerine olan terapötik etkilerinin yanı sıra epitel bariyer bütünlüğünün korunmasında da rol oynadığını göstermektedir. Epitel hücrelere sağladıkları fayda ile birlikte KZYA, bağırsağın bağışıklığı ile ilgili hücrelerin işlevselliğini de etkilemektedir. KZYA'nın, bağırsaktaki dentritik hücreler, makrofajlar ve düzenleyici T hücreleri üzerindeki olumlu etkileri saptanmıştır (Blaak vd. 2020; Pujari & Banerjee, 2021).

Beslenme alışkanlıklarındaki değişim ile birlikte, günlük diyetlerde yağ tüketimi artmakta bunun yanısıra diyet liflerinin tüketimi ise giderek azalmaktadır. Bu değişiklik ve yaşam tarzı bağırsak ile ilişkili inflamatuar hastalıklara karşı duyarlılığın artmasına ortam hazırlamaktadır. Günlük diyetin prebiyotikler ile birlikte desteklenmesi ve prebiyotiklerin fermantasyonu sonucu oluşan KZYA ve postbiyotikler tüm bu olumsuz etkilere karşı bağırsak sağlığını iyileştirmede etkin rol oynamaktadır (Gophna vd., 2006; Pujari & Banerjee, 2021).

Bağırsak mikrobiyotasının oluşumunda ve metabolik rahatsızlıkların hafifletilmesinde rol oynayan polisakkaritler, birçok meyvenin yapısında doğal olarak bulunmaktadırlar. Polisakkaritler, insan bağırsak mikrobiyotası tarafından fermente edilmeleri sonucu oluşturdukları metabolitler sayesinde konakçıya, bağırsak hormonlarının düzenlenmesi, enerji harcamalarının düzenlenmesi, iştahın azaltılması ve enterepotojenik

enfeksiyonlara karşı koruma gibi birçok fonksiyonel fayda sağlamaktadırlar (Xu vd., 2022).

Karbonhidrat kaynaklı bileşenler; substrat kullanımı, prebiyotik etki, fermantasyon ve bakteri gelişimi dışında gıda matrikslerinin stabilizasyonu, raf ömrü, teknolojik özellikler ve meydana gelecek biyokimyasal değişimleri etkilemektedir (Ozcan & Eroglu, 2023).

Tüketilen gıdanın kabul edilebilirliğini etkileyen en önemli faktörlerden biri duyusal özelikler ile birlikte tekstürel özellikleridir. Gıdanın bileşenleri ve bu bileşenlere ilave edilen gıda katkı maddeleri ise tekstürel özellikleri doğrudan veya dolaylı yoldan değiştirmektedir. Bu bileşenlerin arasında inülin ve polidekstroz gibi karbonhidrat kaynaklı maddeler gıdanın makro/mikro yapısını yüksek oranda etkileyen bileşenlerden sayılmaktadırlar. Düşük enerji içerikleri ve prebiyotik özelliğe sahip olmaları sebebi ile gıdalarda tekstürel özelliklerin geliştirilmesi amacı ile tercih edilmektedirler (Allgeyer vd., 2010; Gałkowska vd., 2020).

Bitkisel bir karbonhidrat kaynağı olan inülin; *in vitro* ve *in vivo* koşullarda prebiyotik etkisi kanıtlanmış olan bileşiklerden birisidir. Bileşiminde β-(1-2) bağları yer almaktadır ve bu sayede gastrointestinal sistem enzimleri ile metabolize edilemeyen inülin ağız, mide, ince bağırsaklardan hidrolize olmadan geçmekte; kalın bağırsakta *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri gibi yararlı bakteriler tarafından fermantasyona uğramakta ve kısa zincirli yağ asitlerini oluşturmaktadır. Üretilen kısa zincirli yağ asitlerinin; kolonda pH seviyesinin düşük tutulması, bağırsakta enfeksiyon ve iltihap oluşumuna karşı koruma, antikanserojen etki gibi fonksiyonel faydaları olduğu bilinmektedir (Franck, 2002; Gałkowska vd., 2020; Ozcan & Eroglu, 2022).

Ticari inülin *Compositae* familyasına ait olan hindiba bitkisi (*Cichorium intybus*) ve Asteraceae familyasından, yer elması olarak da bilinen Kudüs enginarı (*Helianthus tuberosus*)'dan üretilmektedir. İnülinin polimerizasyon derecesi 2-60 arasında değişmektedir. Polimerizasyon derecesine göre çözünürlük, termal stabilite, tatlılık derecesi, prebiyotik aktivite ve su bağlama kapasitesi değişiklik göstermektedir. İnülin

üst gastrointestinal kanalda sindirilmediği için 1,0-2,0 kcal/g gibi düşük bir kalorik değere sahiptir (Franck, 2002; Abed vd., 2016).

Gıda teknolojisinde inülin ayrıca; hacim verici, emülsifiye edici, kıvam arttırıcı, stabilizatör, şeker ve yağ ikamesi olması gibi özellikleri ile kullanılmaktadır (Franck, 2002; Allgeyer vd., 2010). Inülin moleküler yapısının yağ moleküllerine benzer yapıda olması ile yağ ikamesi olarak da etki göstermektedir (Bisar vd., 2015). Kip vd. (2006) ve Ozcan & Eroglu (2022) tarafından yapılan çalışmalarda inülinin kıvam arttırıcı olarak rol oynadığı, sütte fermentasyon sırasında hidrojen bağlarının oluşumunda etkili olduğu ve su tutma kapasitesini arttırdığı tespit edilmiştir.

Karbonhidratlar yağlardan daha az enerji içeren, sağladıkları benzersiz fizikokimyasal özellikleri sayesinde yağ ikamesi olarak gıdalarda kullanılan makro bileşenlerdir. Karbonhidrat bazlı yağ ikameleri yağ ile yer değiştirilerek daha az kalorili fonksiyonel ürünler elde edilmektedir (Chen vd., 2020). Yağı azaltılmış gıdalarda kaloriyi azaltmak amacıyla şeker ve yağın ikamesi olarak polidekstroz ve maltodekstrinin de kullanımı oldukça yaygındır (Konar vd., 2014).

Polidekstroz, glikozidik bağların rastgele bağlanması ile bir araya gelmiş yoğun glikoz polimerlerinden oluşmaktadır. Polidekstroz suda iyi çözünürlük ve yüksek stabilite göstermektedir. Polidesktrozun yapısında glikozidik bağlar bulunmaktadır. Bu bağlar arasında 1–6 bağlar baskın durumdadır. Oluşan yapı ortalama polimerizasyon derecesine (12 DP) ve 200 g/mol bir ortalama moleküler ağırlığana sahiptir. Polidekstroz çözeltide nispeten yüksek viskoziteye sahip, iyi ağız hissi ve kremsi yapı sağlayan kompleks bir karbonhidrattır. Polidekstroz insan vücudundaki endojen enzimler tarafından sindirilmeden kolona ulaşmakta ve prebiyotik özellik göstermektedir. Diğer prebiyotik bileşenlerde olduğu gibi polidekstroz da kolonda bağırsak mikrobiyotası tarafından kısmen metabolize edilerek kısa zincirli yağ asitlerini oluşturmaktadır (Murphy, 2001; Do Carmo vd., 2016; Gałkowska vd., 2020).

Düşük kalorili veya diyabetik gıdalarda şeker ikamesi olarak da etki gösteren polidekstroz aynı zamanda; nem bağlayıcı, stabilizatör, hacim verici ve kıvam arttırıcı

olması gibi özellikleri ile de gıda sanayinde kullanılmaktadır (Serin & Sayar, 2016; Gałkowska vd., 2020). İlave edildiği gıdanın duyusal ve tekstürel özelliklerinde değişime neden olmadan şeker veya yağ ikamesi olarak tercih edilmektedir. 1 kcal/g kalori içeriğine sahip olan polidektrozun, endüstride beyaz-krem renklerdeki toz formda kullanımı bulunmaktadır (Konar vd., 2014).

Polidekstroz, berrak özellikteki içeceklerde kıvam arttırıcı ve diyet lifi ilavesi olarak ve ayrıca düşük glisemik indeksi sayesinde diyabetik ürünlerde de iyi bir alternatiftir. Bununla birlikte gıdalarda vitamin ve minerallerden gelen istenmeyen tat ve kokuyu maskelemede polidekstrozun kullanılabileceği belirtilmektedir (Beristain vd., 2006). Süt ürünleri, soslar, tatlılar gibi birçok akışkan gıdada şeker ve yağ ikamesi olarak fonksiyon göstermektedir. Gıdada istenilen tekstürü sağlayıcı olarak görev alırken aynı zamanda şeker/yağ ikamesi olarak kullanıldığı için toplam kalorinin azaltılmasını da sağlamaktadır (Veena vd., 2016).

Polidekstroz içeren diyetle beslenen 45 sağlıklı insan denekle yürütülen bir çalışmada diyetle polidekstroz alımının oro-fekal süreyi kısalttığı (dışkılama süresi) ve kabızlık problemi yaşayan bireylerde dışkı kıvamını iyileştirdiği belirtilmektedir (Hengst vd., 2009).

Jie vd. (2000) tarafından yapılan çalışmada, günlük diyetlerinde 4, 8 ve 12 g olarak farklı oranlarda polidekstroz verilen denekler üzerinde polidekstrozun fizyolojik etkileri araştırılmıştır. Çalışma 120 denekle, iki şahit örnekli, plesebo etkili olarak yürütülmüştür. Çalışma sonucunda polidekstrozun kan değerleri üzerinde herhangi bir belirli etkisinin olmadığı ve polidektrozun tüketimi ile birlikte, bağırsak fonksiyonlarında önemli ölçüde iyileşme olduğu saptanmıştır. Şişkinlik, karın krampları, ishal veya hipoglisemi ile ilgili ise herhangi bir yan etkiye rastlanmamıştır. Polidekstrozun sindirimi boyunca KZYA oluşumunun arttığı ve polidekstroz alımından sonra fekal anaeroblarda önemli değişiklikler olduğu tespit edilmiştir.

Srisuvor vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, inülin ve polidekstroz prebiyotiklerinin az yağlı set tipi yoğurda ilavesiyle yoğurtta meydana gelen

fizikokimyasal ve duyusal değişiklikler incelenmiştir. Çalışma sonucunda iki prebiyotiğin de ilavesi ile yoğurdun fiziksel ve duyusal özelliklerinde olumlu yönde gelişme olduğu saptanmıştır. Yapılan denemeler sonucunda 100 mL'de 2 g polidekstroz kullanımının en uygun seviye oran olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Maltodekstrin, çeşitli botanik kaynaklardan elde edilen ve tatlılık vermeyen nişasta türevi bir karbonhidrat sınıfıdır. Endüstriyel olarak nişastanın enzimatik veya asit hidrolizi, ardından saflaştırma ve püskürtülerek kurutulması sonucunda üretilmektedir. Sindirilebilir maltodekstrin, öncelikle alfa-1,4 bağlarıyla doğrusal olarak bağlanan D-glikoz birimlerinden oluşan sakkarit bir polimerdir, aynı zamanda alfa-1,6 bağları ile dallanmış bir yapıya da sahiptir. Nişastanın hidrolize olması sonucu oluştuğu için yüksek su tutma kapasitesine sahip bulunmaktadır. Su ile reaksiyona girdiğinde termik olarak tersinebilir jeller oluşturarak yağların verdiği ağız hissine benzer etki yaratabilmektedir. Maltodextrin yaklaşık 16 kJ/g (4 kcal/g) enerji değerine sahiptir (Hofman vd., 2016; Chen vd., 2020).

Maltodekstrin yağlardan daha düşük enerji içeriğine sahip olduğu için yağ ikamesi olarak kullanıldığı ürünün toplam enerji içeriğini azaltmaktadır. Yağı azaltılmış gıdalar ile yapılan çalışmalarda yağ ikamesi olarak maltodekstrin ilave edilen gıdalarda duyusal açıdan tüketiciler tarafından kabul edilebilirliğin arttığı tespit edilmiştir (Hadnadev vd., 2014; Chen vd., 2020). Aynı zamanda maltodekstrinin şekerleme dolgusu ve dondurma gibi ürünlerde viskozitede iyileşme sağladığı, üründeki istenmeyen uçucu kokuların salınmasını engellediği yapılan çalışmalarla belirtilmektedir. Maltodekstirinin ağız sağlığını geliştirme, iştahı azaltma ve beyin fonksiyonlarını iyileştirme gibi fizyolojik faydalarının olduğu da bilinmektedir (Chen vd., 2020).

Hadnadev vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada, şekerleme dolgularında 5g/100g hidrojenize bitkisel yağ ile patates veya mısır kaynaklı maltodekstrin yer değiştirildiğinde duyusal analizlerde yüksek oranda kabul edilebilirlik belirlenmiştir. Aynı zamanda çalışmada % 15'e kadar yağ ile maltodekstrin yer değiştirildiğinde duyusal özelliklerde herhangi bir fark oluşmadığı saptanmıştır.

Maltodekstrin birçok süt ürününde yağ ikamesi amacı ile kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda maltodekstrinin az yağlı yoğurtlarda kullanımında viskoziteyi iyileştirmede etki göstermesi ve istenmeyen uçucu kokuların salınmasını engellemesi gibi faydalarının olduğu belirtilmektedir (Chen vd., 2020).

Fuangpaiboon & Kijroongrojana (2017) tarafından yapılan bir çalışmada çeşitli ticari protein ve karbonhidrat bazlı yağ ikame maddelerinin dondurmada yağ ikame etkinliği karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda % 8 tam yağlı kontrol dondurmasına kıyasla, % 50 süt yağının maltodekstrin ile değiştirilmesi duyusal özelliklerde herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır. Bununla birlikte maltodekstrin kullanılan örneklerde daha yüksek iyileştirilmiş ağız hissi ve gelişmiş lezzet ile birlikte duyusal beğenin arttığı tespit edilmiştir.

Bisar vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada polisakkarit karbonhidratlar ile % 3 konsantrasyonunda *B. longum* ATCC 15707, *S. thermophilus* Texl 5842 ve *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* suşlarının yağsız veya tam yağlı sütte ilave edilmesi ile fermente süt ürünleri üretilmiş ve üründeki duyusal, fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikler incelenmiştir. 5-7 °C'de depolamada, depolama süresi arttıkça ilerleyen günlerde pH'da net bir azalma ile birlikte asitlikte artış ve serum ayrılmasında azalma görüldüğü belirtilmiştir. Aynı zamanda maltodekstrin ilave edilen örneklerde *B. longum* ATCC 15707 sayılarında ve viskozitede artış olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda maltodekstrinin fermente sütte probiyotik bakterilerin gelişimi için olumlu etkisinin olduğu ve duyusal özellikleri arttırmada inülene göre etkisinin ise daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Farklı yapay tatlandırıcılar kullanılarak yapılan bir çalışmada, maltodekstrinin asitliği ve su aktivitesini arttırırken, diğer hacim arttırıcı maddelere kıyasla serum ayrılmasını azalttığı tespit edilmiştir. Maltodekstrin ilave edildiği üründe, sorbitol ve polidekstroza kıyasla yapışkanlık ve sakızımsı yapı artmıştır. Yapılan çalışma sonucunda maltodekstrin, aspartam ve asesülfam-K'ya göre en uygun hacim arttırıcı bileşen olarak belirlenmiştir (Raju & Pal., 2011).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Probiyotik yoğurt üretiminde kullanılan yağsız süt tozu Sütaş A.Ş (Karacabey, Bursa) firmasından temin edilmiştir.

Yapılan çalışmada, *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus, Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* bakterilerini içeren karışık probiyotik yoğurt kültürü (YO-MIX 205, LYO 250 DCU) Danisco (Fransa) firmasından temin edilmiştir.

Çalışmada, *Aspergillus niger*'den elde edilmiş liyofilize toz formda G7141 Glikoz oksidaz enzimi (Sigma Aldrich, ABD) kullanılmıştır.

Glikoz, G7021 D-(+)- Glucose olarak toz formda kullanılmış ve Sigma Aldrich (ABD) firmasından temin edilmiştir.

Çalışma kapsamında potansiyel prebiyotik etkisi için kullanılan inülin (Orafti-HSI), Beneo-Orafti (Tienen, Belçika) firmasından temin edilmiştir.

Maltodekstrin, (Maltodextrin, 16,5-19.5 for Biochemistry) Roth (Karlsruhe, Gemany) firmasından temin edilen kullanılmıştır.

Polidekstroz, Polydextrose Abcr (Forcarei / Spain), firmasından temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme deseni

Çalışma kapsamında 6 farklı probiyotik yoğurt üretilmiştir. Karışık probiyotik kültürlerin ilave edildiği Y (kontrol) ve YO (glikoz oksidaz içeren örnek) örneği ayrı tutularak, 4 farklı yoğurt grubuna (YOG, YOI, YOM, YOP) farklı prebiyotik şeker kaynaklarının (glikoz, inülin, maltodekstrin, polidekstroz) ilavesi sonrasında, glikoz oksidaz enzimi de eklenerek probiyotik yoğurt üretimi gerçekleştirilmiştir.

Yapılan ön denemeler ve literatür araştırmaları sonucunda, %0,005 oranında glikoz oksidaz enzimi ve %1 oranında karbonhidrat kaynağı ilavesine karar verilmiştir. Çizelge 3.1.'de üretilen probiyotik yoğurtlara ait deneme deseni verilmektedir.

Çizelge 3.1. Deneme deseni

Örnek	**Uygulama**
Y	Karışık bakteri kültürü ile üretilen probiyotik yoğurt
YO	Karışık bakteri kültürü ve %0,005 glikoz oksidaz enzimi ile üretilen probiyotik yoğurt
YOG	Karışık bakteri kültürü, %0,005 glikoz oksidaz enzimi ve %1 glikoz ilavesi ile üretilen probiyotik yoğurt
YOI	Karışık bakteri kültürü, %0,005 glikoz oksidaz enzimi ve %1 inülin ilavesi ile üretilen probiyotik yoğurt
YOM	Karışık bakteri kültürü, %0,005 glikoz oksidaz enzimi ve %1 maltodekstrin ilavesi ile üretilen probiyotik yoğurt
YOP	Karışık bakteri kültürü, %0,005 glikoz oksidaz enzimi ve %1 polidekstroz ilavesi ile üretilen probiyotik yoğurt

Glikoz oksidaz enzimi ve karbonhidrat kaynaklarının fermantasyon süresince bakteri gelişimine olan etkisi, inkübasyon boyunca pH değişimleri ve farmentasyon başlangıcında (0. Saat) ve fermentasyon sonundaki (0. Gün) bakteri gelişme oranları ile

saptanmıştır. Fermantasyon sonu örneklerinde ayrıca, laktik asit, asetik asit, aset aldehit ve daisetil oranları da belirlenerek fermantasyon kinetikleri incelenmiştir. Depolama süresi boyunca (5., 15. ve 25. günlerde) tüm örneklerde mikrobiyolojik, fizikokimyasal, tekstürel ve duyusal analizler gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Kültürlerin hazırlanması

Kullanılacak starter kültürler Barat & Ozcan (2018) tarafından belirtilen yönteme göre hazırlanmıştır. ~%11 (wt/v) kurumadde içerecek şekilde hazırlanan rekonstitue süt homojenize edildikten sonra 121°C'de 15 dk sterilize edilmiş ve ardından hızla soğutulmuştur. Kültür ilavesi öncesi su banyosunda 40 °C'ye ısıtılan sütlere, aseptik koşullarda karışık DVS kültürden (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*) inokülasyon yapılmıştır. Başlangıç pH ölçümü yapıldıktan sonra karışık bakteri kültürü ile aşılanmış rekonstitüe süt pH 4.8' e gelene ve 8-9 $\log_{10}$ kob/mL canlı hücre konsantrasyonuna ulaşana kadar 40°C'de inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.3. Glikoz oksidaz enziminin hazırlanması

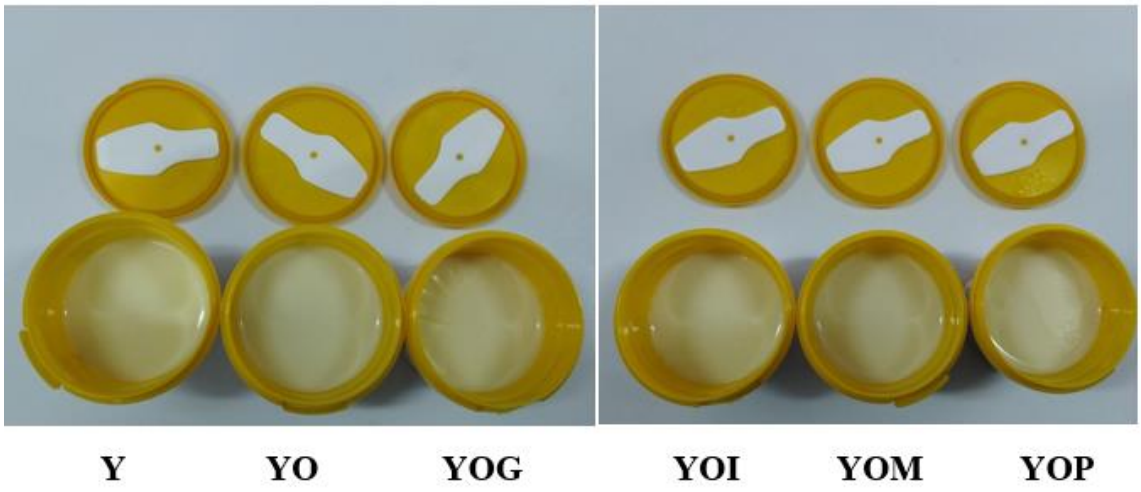
Cruz vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada belirtildiği gibi, glikoz oksidaz enziminin 0,625 g'ı önceden hazırlanan 50 mL steril saf su içerisine ilave edilerek çözündürülmüştür. Daha sonra 50 mL enzim çözeltisi, üretim esnasında enzim içerecek olan örneklerde % 0.005 oranında kullanılmıştır.

3.2.4. Probiyotik yoğurt üretimi

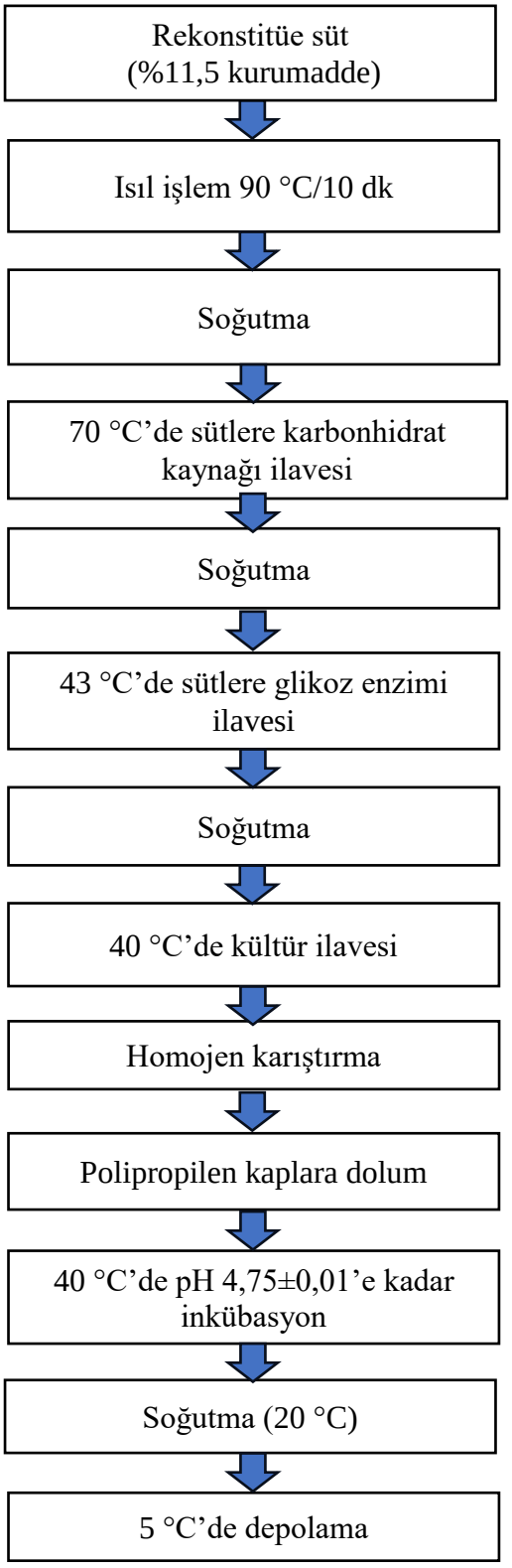
Kurumadde oranı % 11,5 olacak şekilde hazırlanan rekonstitüe süte 90 °C'de 10 dk ısıl işlem uygulanmıştır. Isıl işlem gören sütler hazırlanacak olan 6 farklı örnek için aseptik şartlarda ayrılmış ve süt örnekleri soğutulmaya bırakılmıştır. Örnek sıcaklığı 70 °C'ye ulaştığında deneme desenindeki karbonhidrat kaynakları ilave edilerek, 4 farklı örneğe %1 oranında glikoz, inülin, maltodekstrin ve polidekstroz ilavesi gerçekleştirilmiştir. Örneklerin sıcaklığı 43 °C'ye ulaştığında Y örneği dışında 5 farklı örneğe % 0.005

oranında önceden hazırlanan glikoz oksidaz enzim solüsyonundan ilave edilmiştir. 40°C'de ise her bir örneğe % 3 oranında probiyotik karışık yoğurt kültürü ilavesi yapılmıştır. Kültür, enzim ve prebiyotik şeker ilavesi yapılmış olan sütlerin homojen karışması sağlanmış ve ardından 100 mL'lik polipropilen kaplara dolumları gerçekleştirilmiştir. Her bir örnek için başlangıç pH'ları ölçülerek 40°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Örneklerin pH'sı 4.75±0,01 değerine ulaştığında inkübasyona son verilerek 20°C'ye soğutulmuş, ardından depolama süresi boyunca 5°C'de depolanmıştır.

Probiyotik yoğurt örneklerinin inkübasyon sonu görselleri Şekil 3.1. ve yoğurt üretimine ait akış şeması Şekil 3.2.'de verilmektedir.



Şekil 3.1. Probiyotik yoğurt örneklerine ait görseller



Şekil 3.2. Probiyotik yoğurt üretimi akış şeması

3.3. Probiyotik Yoğurt Örneklerine Uygulanan Analizler

3.3.1. Mikrobiyolojik Analizler

Üretim esnasında kültür, enzim ve prebiyotik karbonhidrat kaynağı/şeker ilavesi yapılmış olan örneklerin her birinden polipropilen kaplara dolumları sonrasında 40 °C'de inkübasyona bırakılmadan önce ve inkübasyonun bitiminde örnekler alınmıştır. Fermentasyon öncesinde alınan örneklerin mikrobiyolojik ekimleri sonrasında bakteri sayımları yapılmıştır. Fermantasyon öncesine ait bakteri sayıları F1 olarak kaydedilmiştir. İnkübasyon tamamlandıktan sonra alınan örneklerin de mikrobiyolojik ekimleri yapılarak bakteri sayıları kaydedilmiştir. Fermantasyon sonrası belirlenen bakteri sayıları F2 değerleri olarak kaydedilmiştir.

Mikrobiyolojik analize hazırlık

8.5 g NaCl'ün 1 L saf suda çözdürülmesi ile hazırlanan fizyolojik tuzlu su çözeltisi (FTS), mikrobiyolojik ekimi yapılacak örnek sayısınca 90 mL'lik cam şişelere ve 9 mL'lik tüplere doldurularak, 121 °C'de ve 1,2 atm basınç altında 15 dakika sterilize edilmiştir. Yoğurt örneklerinden homojen şekilde alınan 10g örnek, aseptik koşullar altında 90 mL sterilize fizyolojik tuzlu su (FTS) içeren cam şişelere aktarılmıştır. Daha sonra 9 mL'lik FTS tüplerinde $10^{-9'}$ a kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır. Paralelli olacak şekilde ekimler gerçekleştirilmiştir (Ozdemir & Ozcan, 2020).

***Streptococcus thermophilus* sayısının belirlenmesi**

Streptococcus thermophilus sayısının belirlenmesi için 10^{-1}'den $10^{-9'}$ a kadar hazırlanan dilüsyonlardan 1'er mL alınarak steril petri kutularına ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petri kutularına M17-Agar (Merck, Germany) steril koşullarda dökülmüş ve petriler aerobik koşullarda 37°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonu petrilerdeki koloniler sayılarak, bakteri sayısı kob/g cinsinden belirlenmiş ve logaritmik olarak hesaplanmıştır (Vianna vd., 2017).

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* sayısının belirlenmesi

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* sayısının belirlenmesi için 10^{-1}'den 10^{-9}' a kadar hazırlanan dilüsyonlardan 1'er mL alınarak steril petri kutularına ekim yapılmıştır. Besiyeri olarak kullanılacak olan MRS-Agar (Biokar Diagnostics, France), tindalizasyonu yapılmış 1 N HCl ile pH 5,2'ye ayarlanarak *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* için selektif hale getirilmiş ve ekim yapılan petri kutularına uygun steril koşullarda dökülmüştür. İnkübasyona hazır hale gelen petriler anaerobik jar (Merck, Germany) içerisine, oksijeni tutucu AnaeroGen (Oxoid, England) ile birlikte yerleştirilmiş ve ardından petriler anaerobik koşullarda 43°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonu petrilerdeki koloniler sayılarak, bakteri sayısı kob/g cinsinden belirlenmiş ve logaritmik olarak hesaplanmıştır (Van de Casteele vd., 2006).

Lactobacillus acidophilus sayısının belirlenmesi

Lactobacillus acidophilus sayısının belirlenmesi için 10^{-1}'den 10^{-9}' a kadar hazırlanan dilisyonlardan 1'er mL alınarak steril petri kutularına ekim yapılmıştır. Besiyeri olarak kullanılacak olan MRS-Agar (Biokar Diagnostics, France) içerisine 1.5 g/L oranında bile salts (Oxoid, UK) ilave edilerek besiyeri *L. acidophilus için* selektif hale getirilmiştir. Sonrasında besiyeri ekim yapılan petrilere steril koşullarda dökülmüştür. Anaerobik koşulları sağlamak amacıyla petri kutuları AnaeroGen (Oxoid, England) ile birlikte anaerobik jarlara (Merck, Germany) yerleştirilmiş ve 37°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonu petrilerdeki koloniler sayılarak, bakteri sayısı kob/g cinsinden belirlenmiş ve logaritmik olarak hesaplanmıştır (Muelas vd., 2018).

Bifidobacterium animalis subsp. lactis sayısının belirlenmesi

Bifidobacterium animalis subsp. *lactis* sayısının belirlenmesi için 10^{-1}'den 10^{-9}' a kadar hazırlanan dilisyonlardan 1'er mL alınarak steril petri kutularına ekim yapılmıştır. Besiyeri olarak MRS Agar (Biokar Diagnostics, France) içerisine 2 g/L lityum kloroit (Merck, Germany), 3 g/L sodyum propiyonat (Sigma, USA) ilave edilerek, besiyeri *B.*

animalis subsp. *lactis* için selektif hale getirilmiş ve ekim yapılan petri kutularına steril koşullarda dökülmüştür. Anaerobik koşulları sağlamak amacıyla petri kutuları AnaeroGen (Oxoid, England) ile birlikte anaerobik jarlara (Merck, Germany) yerleştirilmiş ve 37°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonu petrilerdeki koloniler sayılarak, bakteri sayısı kob/g cinsinden belirlenmiş ve logaritmik olarak hesaplanmıştır (Sims vd., 2014).

Gelişme oranı

Mikroorganizmaların Gelişme Oranı (GO) Ahmadi vd. (2012)'na göre hesaplanmıştır:

GO: Son Hücre Populasyonu (log_{10} cfu g^{-1})/Başlangıç Hücre Populasyonu (log_{10} cfu g^{-1})

3.3.2. Fizikokimyasal analizler

pH

Probiyotik yoğurt örneklerinde inkübasyon ve depolama aşamasında Hanna pH 2211 (Hanna Instrumens-USA) marka pH metre ile pH değerleri saptanmıştır. Cihaz oda sıcaklığındaki (20°C) pH 4 ve pH 7'lik tampon çözeltilerle kalibre edildikten sonra üçer paralelli olarak pH değerleri ölçülmüştür (AOAC, 2012).

Titrasyon asitliği tayini

Titrasyon asitliği tayininde, 10 g örnek oda sıcaklığına geldiğinde homojen hale getirilmiş ve üzerine 10 mL saf su ilave edilerek 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. % laktik asit cinsinden titrasyon asitliği hesaplanmıştır (Agil & Hosseinian, 2012).

$$\% \text{ Titrasyon Asitliği (\% LA)} = \frac{S \times F \times N \times 0{,}09}{Ö} \times 100$$

S = Titrasyonda kullanılan 0,1 N NaOH çözeltisi (mL)
Ö = Titrasyonda kullanılan örnek miktarı (g)

Serum ayrılması tayini

Örnekler 25'er gram olacak şekilde alınarak +4 °C'de 2 saat filtre kağıdından süzülmeye bırakılmıştır. 2 saat sonunda süzülen miktar mL cinsinden okunarak sonuç mL/25 g olarak verilmiştir (Delikanli & Ozcan 2014).

Su tutma kapasitesi tayini

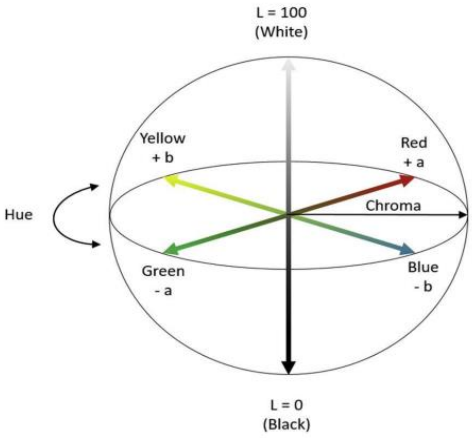
Örneklerin su tutma kapasitesi tayini için Remeuf vd. (2003) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. Ağırlığı bilinen santrifüj tüpleri içerisine 10'ar g örneklerden tartım yapılmış ve 10 °C'de 10 dk, 6000 devir/dk hızda santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Santrifüj sonrasında tüplerin üst kısımlarında kalan sıvı fazın ayrılması sağlanarak kalan kısmın tüp içerisinde tartımı (son tartım) gerçekleştirilmiştir. % su tutma kapasitesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Su Tutma Kapasitesi (\%)} = \left[\frac{(\text{sontartım} - \text{tüpün boş ağırlığı})}{\text{örnek miktarı}}\right] \text{x}100$$

Renk tayini

MSEZ-4500L Hunter Lab (Virginia, ABD) cihazı kullanılarak, örneklerin renk analizi gerçekleştirilmiştir. Örneklerin farklı noktalarından olacak şekilde 3'er kez okuma yapılıp sonuçların ortalamaları alınmıştır. Ölçümlerde *L** (parlaklık), *a** (+kırmızı, -yeşil) ve *b** (+sarı, -mavi) değerleri saptanmıştır.

Şekil 3.2.'de değerlendirmeye esas alınan Hunter-renk skalası verilmektedir.



Şekil 3.3. Hunter-renk sistemindeki parametrelerin skalası

3.3.3. Aroma Maddeleri Tayini

Asetaldehit ve diasetil miktarları Yılmazer ve Seçilmiş (2006) tarafından belirtilen yönteme göre gerçekleştirilmiştir. Aroma maddeleri, Agilent 7697A Headspace, Agilent 7890A GC ve 5975C MS cihazları kullanılarak tespit edilmiştir. Uygulamada kullanılan yöntemin koşulları aşağıda verilmiştir.

Kolon sıcaklık programı: 35 °C'de 5 dakika bekledikten sonra dakikada 5°C'lik artışla 150°C'ye ulaşılmakta ve bu sıcaklıkta 5 dakika beklenmektedir.
Dedektör ve enjektör sıcaklığı: 200°C ve 180°C
Akış Hızı: 25 psi (He)
Enjektör: 90 °C
Transfer hattı: 120 °C
Vial: 85 °C
Termostat süresi: 5 dakika
Basınç süresi: 0,5 dakika
Enjeksiyon süresi: 0,08 dakika
Geri çekim süresi: 0,50 dakika

3.3.4. Organik Asit Tayini

Asetik asit miktarları Agilent 7697A Headspace, Agilent 7890A GC ve 5975C MS cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Yılmazer & Seçilmiş 2006). Yöntemin çalışma koşulları aşağıda verilmiştir.

Kolon sıcaklık programı: 35 °C'de 5 dakika bekledikten sonra dakikada 5°C'lik artışla 150°C'ye ulaşılmakta ve bu sıcaklıkta 5 dakika beklenmektedir.
Dedektör ve enjektör sıcaklığı: 200°C ve 180°C
Akış Hızı: 25 psi (He)
Enjektör: 90 °C
Transfer hattı: 120 °C
Vial: 85 °C
Termostat süresi: 5 dakika
Basınç süresi: 0,5 dakika
Enjeksiyon süresi: 0,08 dakika
Geri çekim süresi: 0,50 dakika

Laktik asit miktarının belirlenmesinde Shimadzu Prominence Marka HPLC cihazı kullanılmıştır. HPLC Metodunun koşulları aşağıda verilmiştir. mg/kg cinsinden laktik asit miktarı belirlenmiştir (Güzel-Seydim vd. 2000; Aktas vd., 2005).

CBM: 20ACBM
Dedektör: DAD (SPD-M20A)
Kolon Fırını: CTO-10ASVp
Pompa: LC20 AT
Autosampler: SIL 20ACHT
Bilgisayar Programı: LC Solution
Kolon: ODS 4 (250 mm*4,6 mm, 5 μm) (GP Sciences, Inertsil ODS-4, Japonya)
Mobil faz: pH'sı ortofosforik asitle 3'e ayarlanmış ultrasaf su.

3.3.5. Enstrümental Tekstür Analizi

Örneklerde tekstürel özelliklerin belirlenmesi amacıyla Texture Analyser TA-Plus (Lloyd Instruments) cihazı ve back ekstrüzyon probu kullanılmıştır. Back ekstrüzyon testinde baskılama işleminde 1 mm.s -1 crosshead hızında, 40 mm çapında ve 30 mm derinliğindeki silindir prob örneğe daldırılarak ölçüm sağlanmıştır. Analiz sonucunda okunan parametreler; sıkılık (firmness; g) maksimum pozitif kuvvet, konsistens (consistency; gs) pozitif bölge alanı, iç yapışkanlık (cohesiveness, g) maksimum negatif kuvvet, viskozite indeksi (index of viscosity, gs) negatif bölgenin alanı olarak olarak belirlenmiştir (Ozdemir & Ozcan, 2020).

3.3.6. Duyusal Analizler

Çalışmada üretilen probiyotik yoğurt örnekleri depolama süresi boyunca süt ve ürünleri konusunda tanımlayıcı profilleri belirleme yeteneğine sahip eğitimli panelistler tarafından duyusal analize tabi tutulmuştur. Değerlendirmede Karaman ve Ozcan (2021) tarafından kullanılan duyusal analiz skalaları modifiye edilerek duyusal analizler gerçekleştirilmiştir.

Analiz esnasında tat, koku ve aroma farklılığının daha net sağlanabilmesi adına panelistlere kraker ve su ikram edilmiştir. Hedonik skala ile panelistlerin tercih/beğenisi ve ayrıca ürünün tanımlayıcı özellikleri ise Kantitatif Tanımlayıcı Test (QDA-Quantitative Descriptive Test) ile belirlenmiştir. Duyusal değerlendirmede, tüketici beğenisi değerlendirme skalasına göre probiyotik yoğurt örneklerinin görünüş, aroma, tekstür ve genel kabul edilebilirlik değerleri 1-9 aralığında, satın alma niyeti ise 1-5 aralığında belirtilmiştir. Örneklerin spesifik duyusal özellikleri ise tanımlama testi (QDA) skalası ile hissedilen yoğunluk derecesine göre 1-15 aralığında belirlenmiştir.

3.3.7. İstatistiksel Analizler

Çalışma kapsamında analizlerin sonunda elde edilen sonuçların istatistiki olarak değerlendirilmesi tesadüf parselleri deneme deseni uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçların karşılaştırılması için Minitab17 istatistik programı kullanılarak varyans analizi yapılmıştır. Analiz sonuçlarındaki farklılıkların belirlenmesi için LSD testi uygulanarak $p<0,01$ ve $p<0.05$ düzeyinde sonuçlar karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Mikrobiyolojik Özellikler

Süt ürünleri probiyotik bakterilerin gelişimi açısından yaygın olarak kullanılan gıda matriksleridir. Probiyotik bakterileri içeren fonksiyonel gıdalar tüketildiğinde beklenen faydanın sağlanabilmesi için ürünün belirli sayıda canlı probiyotik bakteri içermesi gerekmektedir. Bu sebeple probiyotik içeren ürünlerle yapılan çalışmalarda depolama süresince canlı kalan bakteri sayının incelenmesi biyoterapötik etki için önemli olmaktadır (Talwalkar & Kailasapathy, 2003; O'Toole vd., 2017).

Depolama süresi boyunca oksijen toksisitesine bağlı hücre inaktivasyonu sonucu bakteri sayısındaki azalmalar belirtilen biyolojik etkiyi azaltabilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda glikoz oksidaz enzimi, oksijeni uzaklaştırarak anaerob olan probiyotik bakterilerin gelişimini desteklemekte ve probiyotik fermente süt ürünlerinde alternatif bir çözüm olarak kullanılabilmektedir (Altınkaynak & Özcan, 2021).

Bu çalışmada glikoz oksidaz enzimi ile birlikte farklı karbonhidrat ve/veya prebiyotik şeker kaynakları ilave edilmiş probiyotik yoğurt örneklerinde, fermantasyon ve depolama süresi boyunca bakteriyel gelişimi izlemek için mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon öncesi yapılan mikrobiyolojik analiz sonucuna göre örneklerdeki bakteri sayıları F1, fermentasyon sonrası bakteri sayıları F2 olarak isimlendirilmiştir.

Fermantasyon süresince örneklerdeki bakteri sayılarının değişimi ve gelişme oranları Çizelge 4.1.'de verilmektedir.

Çizelge 4.1. Fermantasyon öncesi ve sonrası bakteri sayısı değişimi (log_{10} kob/g)

Örnek	Mikroorganizma	Fermentasyon Öncesi (F1)	Fermentasyon Sonrası (F2)	Gelişme Oranı
Y	*S. thermophilus*	8,44	9,22	1,09
	L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*	7,19	7,82	1,09
	L. acidophilus	7,40	7,85	1,06
	B. animalis subsp. *lactis*	8,47	8,86	1,05
YO	*S. thermophilus*	7,82	9,39	1,20
	L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*	7,26	7,65	1,05
	L. acidophilus	7,00	8,23	1,18
	B. animalis subsp. *lactis*	7,42	7,98	1,08
YOG	*S. thermophilus*	8,30	9,08	1,09
	L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*	7,09	7,47	1,05
	L. acidophilus	6,72	7,56	1,13
	B. animalis subsp. *lactis*	7,30	8,11	1,11
YOI	*S. thermophilus*	8,69	9,06	1,13
	L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*	7,30	8,63	1,18
	L. acidophilus	7,54	8,48	1,12
	B. animalis subsp. *lactis*	7,39	9,22	1,25
YOM	*S. thermophilus*	8,30	9,66	1,16
	L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*	7,11	8,73	1,23
	L. acidophilus	7,60	8,24	1,08
	B. animalis subsp. *lactis*	8,24	9,37	1,14
YOP	*S. thermophilus*	8,06	9,34	1,16
	L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*	7,32	7,77	1,06
	L. acidophilus	7,17	7,67	1,07
	B. animalis subsp. *lactis*	8,04	8,49	1,06

Fermentasyon öncesi (F1) ve fermantasyon sonrası (F2) örneklerin bakteri sayıları karşılaştırıldığında, tüm örneklerde fermantasyon süresi sonunda beklenildiği gibi bakteri sayında artış saptanmıştır. Gelişme oranları incelendiğinde *S. thermophilus* açısından gelişme oranı YO > YOM - YOP > YI > YOG - Y şeklindedir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* en yüksek glikoz oksidaz enzimi ve maltodekstrin içeren ortamda gelişme göstermiştir. Gelişme oranları YOM > YOI > Y > YO - YOP - YOG olarak gerçekleşmiştir. *B. animalis subsp. lactis* fermantasyon boyunca en fazla inülin içeren ortamda gelişmiştir ve gelişim YOI > YOM > YOG > YO > YOP >Y şeklindedir. *L. acidophilus* YO > YOG > YOI > YOM > YOP > Y olarak gelişme göstermiştir. Genel olarak glikoz oksidaz enzimi ve karbonhidrat kaynaklarının varlığı gelişme oranını olumlu yönde etkilemiştir (Çizelge 4.1).

*Lactobacillu*s türlerinin çoğu, oksijene toleranslı anaeroblar olarak kabul edilmektedir. Aerobik gelişmeye bağımlı olan tam bir elektron taşıma zincirleri (ETC) bulunmamaktadır. Oksijenin varlığı reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine neden olabilecek proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi hücresel bileşenlere zarar vermektedir. Oksijen varlığında hücresel büyüme gerçekleştiren suşların seçimi, katalaz ve elektron alıcı moleküller gibi oksidatif strese karşı koruyucu ajanların üretilmesi bu anlamda önemlidir. Bir stratejinin geliştirilmesinde fermentatif metabolizmayı indükleyen moleküllerin ve substratların sisteme eklenmesi tüketilen karbon kütlesi tarafından üretilen hücrenin miktarını belirlemektedir. Simbiyotik bir sistemde oksidatif solunumu kullanan hücresel metabolizma, biyo-kütle üretimini ve bakteriyel gelişimi de artırabilmektedir. Farklı stres türlerine karşı daha dayanıklı hücrelerin gelişimi oksijenin minimum düzeyde tutulmasıyla sağlanabilmektedir. Hasar görmüş moleküller, hücrenin onarıcı mekanizmalarında daha fazla enerji harcamasına ihtiyaç duymaktadır ve bu da farklı oranda karbonhidrat indirgenmesi ile sonuçlanmaktadır (Zotta vd, 2017; Zotta vd, 2018).

Enzim ve farklı karbonhidrat ilaveli probiyotik örneklerindeki *S. thermophilus* sayısına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.2.'de belirtilmiştir. Varyans analiz sonuçları incelendiğinde örnekler, depolama süresi ve örnek x depolama süresi interaksiyonu açısından *S. thermophilus* sayılarındaki değişim, $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge.4.2. incelendiğinde *S. thermophilus* sayılarına ait LSD testi sonuçlarına göre en yüksek *S. thermophilus* sayısı 9,25 $\log_{10}$ kob/g değeri ile Y örneğinde ve 9,08 $\log_{10}$ kob/g değeri ile glikoz oksidaz ile birlikte inülin ilave edilen YOI örneğinde belirlenmiştir. En düşük *S. thermophilus* sayısı ise 7,46 $\log_{10}$ kob/g değeri ile glikoz oksidaz enzimi ve glikoz ilaveli YOG örneğinde saptanmıştır. Glikoz oksidaz enzimi aerob bu bakterinin gelişimini olumsuz etkilemiştir. Ancak prebiyotik inülin ve maltodekstrin gelişimi desteklemiştir.

Çizelge 4.2. *S. thermophilus* bakterisine ait LSD testi sonuçları ($\log_{10}$ kob/g)

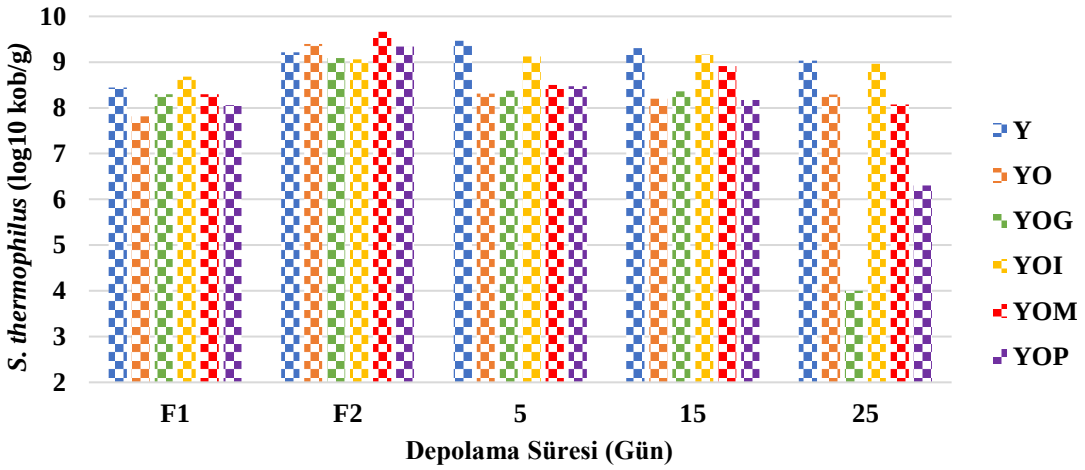
Örnek	**N**	***S. thermophilus***
Y	12	9,25[a]
YO	12	8,55[c]
YOG	12	7,46[e]
YOI	12	9,08[ab]
YOM	12	8,79[bc]
YOP	12	8,07[d]
Depolama Süresi		
F2	18	9,30[a]
5	18	8,71[b]
15	18	8,69[b]
25	18	7,44[c]
ANOVA		
Örnek (Ö)	5	**
Depolama Süresi (D)	3	**
Ö x D	15	**
Hata	48	

(*) $p<0,05$ düzeyinde önemli, (**) $p<0,01$ düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Depolama süresine göre LSD testi sonuçları incelendiğinde ise en yüksek *S. thermophilus* sayısı 9,30 $\log_{10}$ kob/g ile fermantasyon sonrası (F2) ve 0. günde, en düşük *S. thermophilus* sayısı ise 7,44 $\log_{10}$ kob/g ile depolamanın 25. gününde tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca *S. thermophilus* sayıları incelendiğinde fermantasyon sonrası (F2) *S. thermophilus* sayılarının en yüksek olduğu ve depolama süresi arttıkça düşüş olduğu tespit edilmiştir. *S. thermophilus'*un oksidatif aktivite gösterdiği göz önünde bulundurulduğunda, bu durum, depolama süresi boyunca

üründeki ve ambalajdaki serbest oksijen miktarının azalmasıyla bağlantılı olarak bakteri sayında azalma meydana gelmesi ile ilişkilendirilebilir. Cruz vd. (2012) glikoz oksidaz enzimi ilave edilen yoğurtlarda çözünmüş oksijen konsantrasyonunun az olduğunu belirtmektedir.

Şekil 4.1.'de fermantasyon ve depolama süresi boyunca yoğurt örneklerindeki *S.thermophilus* sayısındaki değişim verilmiştir.



Şekil 4.1. Probiyotik yoğurtlarda *S. thermophilus* sayısındaki değişim

Probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* sayısına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.3.'de belirtilmiştir. Varyans analiz sonuçları incelendiğinde *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayılarındaki değişim örnek, depolama süresi ve örnek x depolama süresi interaksiyonuna göre $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Örneklerin içerdiği *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayılarına ait LSD testi sonuçlarına göre en yüksek *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı 7,75 $\log_{10}$ kob/g ile Y örneğinde, en düşük değer ise 4,17 $\log_{10}$ kob/g ile glikoz oksidaz enzimi ve polidekstroz ilaveli YOP örneğinde saptanmıştır. Glikoz oksidaz enzimi ve maltodekstrin *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterisinin gelişimde stimülatif etki göstermiştir (Çizelge 4.3).

L. delbrueckii subsp. *bulgaricus* sayılarına ait LSD testi sonuçları depolama süresine göre incelendiğinde en yüksek *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* değeri 8,01 $\log_{10}$ kob/g ile fermantasyon sonrası F2/0. gün örneklerinde, en düşük *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı ise 3,73 $\log_{10}$ kob/g ile depolamanın 25. gününde belirlenmiştir (Çizelge 4.3.).

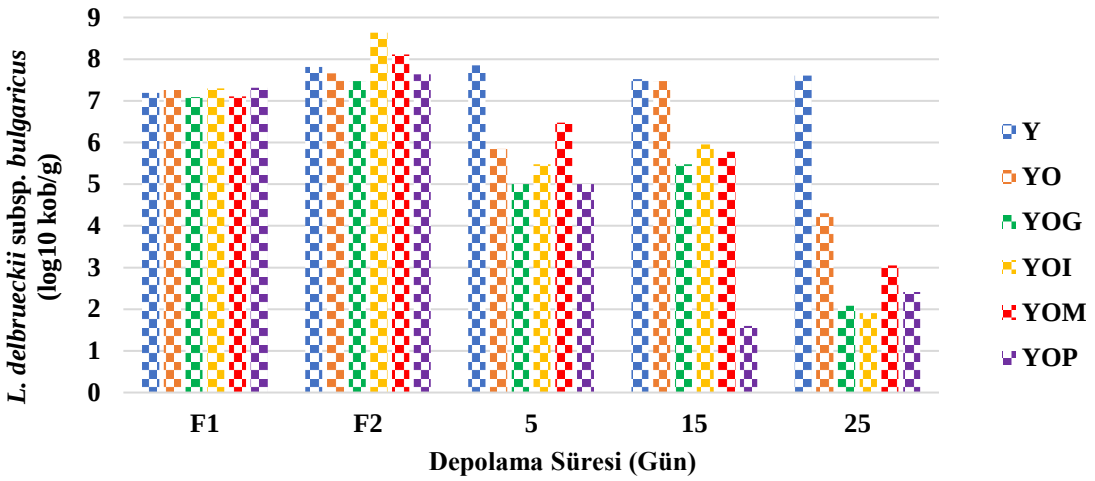
Çizelge 4.3. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterisine ait LSD testi sonuçları ($\log_{10}$ kob/g)

Örnek	**N**	***L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus***
Y	12	7,75[a]
YO	12	6,32[b]
YOG	12	5,63[d]
YOI	12	5,65[d]
YOM	12	6,00[c]
YOP	12	4,17[e]
Depolama Süresi		
F2	18	8,01[a]
5	18	6,20[b]
15	18	5,76[c]
25	18	3,73[d]
ANOVA		
Örnek (Ö)	5	**
Depolama Süresi (D)	3	**
Ö x D	15	**
Hata	48	

(*) $p<0,05$ düzeyinde önemli, (**) $p<0,01$ düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Depolama süresi boyunca en yüksek *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayıları kontrol Y örneğinde, en düşük sayılar ise polidekstroz ve glikoz oksidaz enzimi ilaveli YOP örneklerinde belirlenmiştir. Depolama süresi boyunca *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* sayılarında giderek azalma olduğu tespit edilmiştir. Karbonhidrat ve enzim ilave edilen örneklerdeki canlı bakteri sayılarının genel olarak düşük olması, glikoz oksidaz enziminin bakteriyel substrat kullanımını etkilemesi ve oluşan metabolitlerin bakteriyel kullanım için yetersiz kalması ile ilişkilendirilebilir.

Şekil 4.2.'de fermantasyon ve depolama süresi boyunca yoğurt örneklerindeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısındaki değişim verilmiştir.



Şekil 4.2. Probiyotik yoğurtlarda *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayılarındaki değişim

Çizelge 4.4.'de varyans analiz sonuçları incelendiğinde *B. animalis subsp. lactis* sayılarındaki değişim, örnek, depolama süresi ve örnek x depolama süresi interaksiyonuna göre $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Örneklerin *B. animalis* subsp. *lactis* sayılarına ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.4.'de verilmiştir. LSD testi sonuçlarına göre en yüksek *B. animalis subsp. lactis* değeri 7,86 $\log_{10}$ kob/g ile Y örneğinde ve 7,49 $\log_{10}$ kob/g değeri ile glikoz oksidaz enzim ilaveli prebiyotik şeker ilavesiz YO örneğinde belirlenmiştir. İnulin ve maltodekstrin bakteri gelişimi desteklemiştir. En düşük değer ise 3,37 $\log_{10}$ kob/g ile glikoz oksidaz enzimi ve polidekstroz ilaveli YOP örneğinde saptanmıştır. *Bifidobacterium* türlerinin oksijene olan duyarlılıkları kullanılan suşa bağlı olarak değişmektedir. Bakterilerin oksidatif strese karşı toleransı, bazı enzimlerin varlığı ve hücre morfolojisi ile ilişkilendirilmektedir (Ruiz vd., 2011; Cruz vd., 2012).

Depolama süresine göre LSD testi sonuçları incelendiğinde, en yüksek *B. animalis subsp. lactis* değeri 8,67 $\log_{10}$ kob/g ile fermantasyon sonrasında (F2), en düşük *B.*

animalis subsp. lactis değeri ise 4,18 log_{10} kob/g ile depolamanın 25. gününde tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. *B. animalis* subsp. *lactis* bakterisine ait LSD testi sonuçları (log_{10} kob/g)

Örnek	**N**	***B. animalis* subsp. *lactis***
Y	12	7,86[a]
YO	12	7,49[a]
YOG	12	6,37[c]
YOI	12	6,89[b]
YOM	12	6,37[c]
YOP	12	3,37[d]
Depolama Süresi		
F2	18	8,67[a]
5	18	5,69[c]
15	18	6,96[b]
25	18	4,18[d]
ANOVA		
Örnek (Ö)	5	**
Depolama Süresi (D)	3	**
Ö x D	15	**
Hata	48	

(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

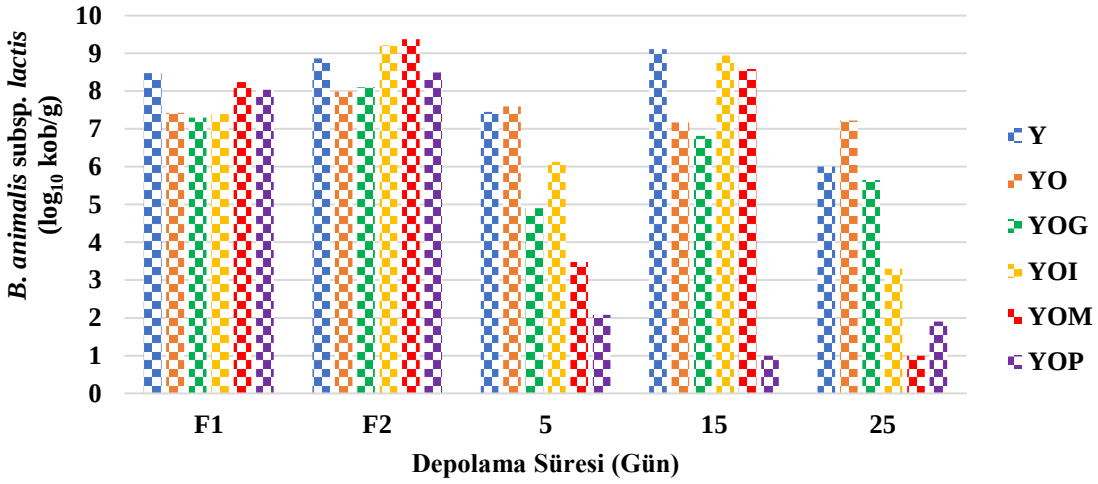
Hücre içerisinde H_2O_2 birikmesi *Bifidobacterium* metabolizmasında anahtar bir enzim olan fruktoz-6- fosfofruktoketolaz'ı inhibe etmektedir. Bu bağlamda, hücrede var olan NAD-oksidaz ve NAD-peroksidaz enzimlerinin seviyeleri ile *Bifidobacterium* türlerinin oksijene duyarlılıkları arasında pozitif bir korelasyon bulunmaktadır (Roy, 2005). Yapılan çalışmalarda oksijenin probiyotik bakterilerin canlılığı üzerindeki toksik etkisinin *Bifidobacterium* suşlarında *Lactobacillus* ve diğer laktik asit bakterilerine göre daha fazla hassasiyet gösterdiği tespit edilmiştir (Amaretti vd., 2013).

Cruz vd. (2013), süt ürünlerinde oksijen varlığında özellikle *L. bulgaricus* gibi bazı türlerin ürün sisteminde bulunan diğer probiyotik bakteriler için toksik olan peroksit ürettiklerini belirtmektedir.

Cruz vd. (2012b) tarafından yapılan çalışmada probiyotik yoğurtlarda oksidatif stresi azaltması amacıyla farklı seviyelerde glikoz oksidaz enzimi ilavesi yapılmış ve

depolama süresi boyunca gerçekleşen fizikokimyasal ve mikrobiyolojik değişimler incelenmiştir. Çalışma sonucunda yüksek konsantrasyonlarda enzim içeren örneklerde glikoz oksidazın bakteri gelişimine beklenin tersi yönde olumsuz etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışma sonucunda ürüne ilave glikoz oksidazın fazlasının, subsrat yetersizliği ve enzimin ürettiği hidrojen peroksit sebebiyle bakterilerin gelişimine olumsuz etkisinin olabileceği sonucuna varılmıştır.

Şekil 4.3.'de fermantasyon ve depolama süresi boyunca probiyotik yoğurt örneklerindeki *B. animalis* subsp. *lactis* sayısındaki değişim verilmiştir.



Şekil 4.3. Probiyotik yoğurtlarda *B. animalis* subsp. *lactis* sayılarındaki değişim

Enzim ve farklı karbonhidrat kaynağı içeren probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. acidophilus* sayısına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5.'de belirtilmiştir. Varyans analiz sonuçları incelendiğinde *L. acidophilus* sayılarındaki değişim örnek, depolama süresi ve örnek x depolama süresi interaksiyonu açısından önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

L. acidophilus sayılarına ait LSD testi Çizelge 4.5.'de verilmiştir. LSD testi sonuçlarına göre en yüksek *L. acidophilus* değeri 7,56 $\log_{10}$ kob/g ile Y örneğinde, en düşük değer ise 3,95 $\log_{10}$ kob/g ile glikoz oksidaz enzimi ve polidekstroz ilaveli YOP örneğinde saptanmıştır. İnulin ve maltodekstrin bakteri gelişimini desteklemiştir.

LSD testi sonuçları depolama süresine göre incelendiğinde en yüksek *L. acidophilus* değeri 8,00 log_{10} kob/g ile fermantasyon sonrasında ve 0. günde (F2), en düşük *L. acidophilus* değeri ise 4,48 log_{10} kob/g ile depolamanın 25. gününde tespit edilmiştir. Glikoz oksidaz ilavesinin oksidatif stresi azaltmasıyla birlikte enzim ilavesinin kullanılacak substrat yetersizliğinden dolayı bakteri gelişimini azaltabileceği Cruz vd. (2012b) tarafından belirtilmiştir. Polidekstrozun molekül yapısının bakterilerin kullanımı için uygun bir substrat olmamasının artan hidrojen peroksit nedeni ile hücre sayısında azalma yaratmış olabileceği düşünülmektedir.

Artan glikoz oksidaz konsantrasyonu ortamda hidrojen peroksit birikmesine bağlı olarak *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* BB-12'nin gelişimi üzerine olumsuz etkisi olduğu Akin & Dasnik (2015) tarrafından saptanmıştır.

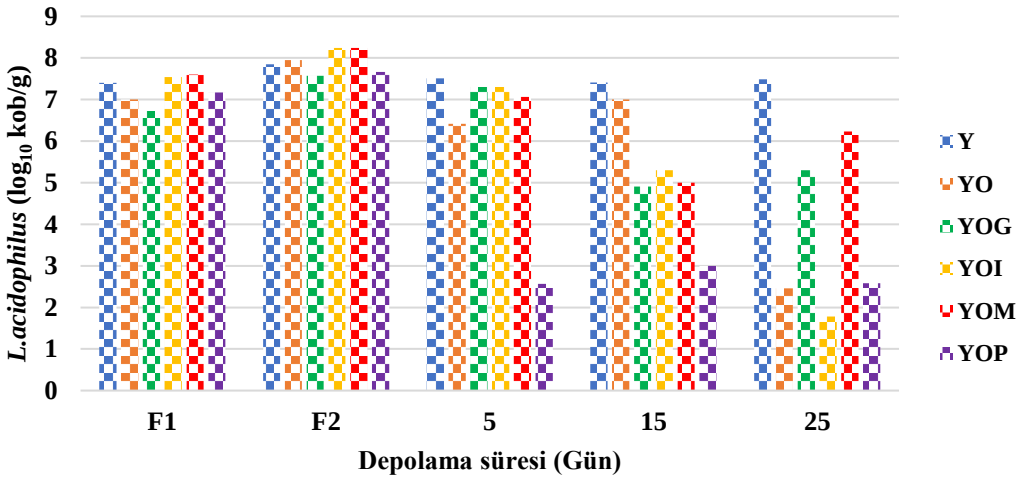
Çizelge 4.5. *L. acidophilus* bakterisine ait LSD testi sonuçları (log_{10} kob/g)

Örnek	**N**	***L. acidophilus***
Y	12	7,56[a]
YO	12	6,04[c]
YOG	12	6,27[cb]
YOI	12	6,21[cb]
YOM	12	6,63[b]
YOP	12	3,95[d]
Depolama Süresi		
F2	18	8,00[a]
5	18	6,36[b]
15	18	5,61[c]
25	18	4,48[d]
ANOVA		
Örnek (Ö)	5	**
Depolama Süresi (D)	3	**
Ö x D	15	**
Hata	48	

(*) $p<0,05$ düzeyinde önemli, (**) $p<0,01$ düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Şekil 4.4.'de fermantasyon ve depolama süresi boyunca probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. acidophilus* sayısındaki değişim verilmiştir.

Mikrobiyal değişim sonuçları incelendiğinde (Çizelge 4.2-4.5.) bakteri gelişimlerinin glikoz oksidaz enzimi varlığında her karbonhidrat kaynağı ve prebiyotik bileşen için farklı olduğu saptanmıştır. Karbonhidrat kaynaklarının moleküler ağırlığı ve yapısı, molekül içerisindeki glikoz moleküllerinin bağlanma şekilleri ve protein-karbonhidrat interaksiyonlarının bakteri gelişimi ve substrat kullanımında etkili olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.4. Probiyotik yoğurtlarda *L. acidophilus* sayındaki değişim

İnülinin diğer nişasta polisakkaritlerine göre molekül ağırlığı düşüktür ve substrat olarak kullanımı bakteriler için daha hızlı gerçekleşmektedir (Canbulat & Ozcan, 2015). Maltodekstrin düşük molekül ağırlıklı polisakkaritler, oligosakkaritler ve basit şekerlerden oluşmaktadır ve bu şekerlerin laktik asit bakterileri tarafından daha kolay kullanılacağı Xie vd. (2005) tarafından belirtilmektedir.

Yapılan çalışmalarda polidekstrozun diğer prebiyotiklere göre daha düşük bir bakteri gelişimi sağladığı belirtilmektedir. Polidekstrozun rastgele bağlı bir glikoz polimeri özelliği taşıması ve doğrusal olmayan bu yapının kırılmasının daha zor olması substrat olarak kullanımını zorlaştırmıştır (Lankaputhra vd., 1996; Peuranen vd. 2004; Bisar vd., 2015).

Probiyotik bakterilerin süt ürünlerine işlenmesi sırasında asit stresi, soğuk stresi ve oksidatif stres gibi bazı teknolojik zorluklar ile karşılaşılmaktadır. Hücrede oksidatif

stres, süperoksit iyonu veya hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) etkisiyle oluşmaktadır. Oluşan bu oksidatif stres anaerob özellik gösterdiği bilinen probiyotik bakterilerin canlılığını etkilemektedir (Granato vd., 2010; Cruz vd., 2013).

Probiyotik bakteri içeren fermente süt ürünlerinde bu oksidatif stresi azaltmak için geliştirilen yöntemlerden birisi ürüne glikoz oksidaz enzimi ilave edilmesidir. Daha önce glikoz oksidaz ilave edilen süt ürünleri ile yapılan çalışmalarda depolama süresi boyunca yüksek sayıda canlı bakteri sayısı, bazı fizikokimyasal (Cruz vd., 2010; Cruz vd., 2012a) ve duyusal (Cruz vd., 2012) özelliklerde minör değişiklikler kaydedilmiştir.

Bununla birlikte probiyotik yoğurtlarda depolama süresi boyunca örneklerin pH'larındaki düşmenin canlı probiyotik suşların azalmasından sorumlu faktörlerden biri olduğu da Granato (2010) ve Cruz vd. (2012b) tarafından belirtilmektedir.

4.2. Fizikokimyasal Özellikler

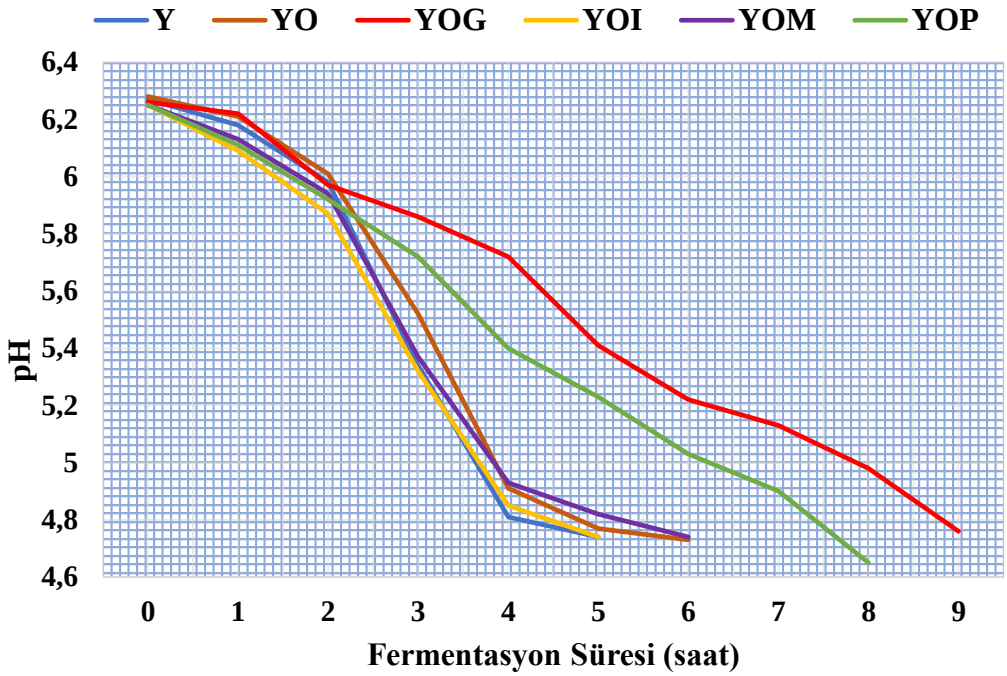
4.2.1. Fermantasyon ve depolama boyunca pH değişimi

Yoğurt üretiminde, fermantasyon süresince starter mikroorganizmaların aktiviteleri ile pH değeri giderek azalmakta ve izoelektriki noktada pıhtı oluşumu ile fermantasyon süreci sona ermektedir. Probiyotik ürünlerde fermantasyon kullanılan bakteri ve gıda matriksinin bileşimine göre değişmektedir (Ozdemir & Ozcan 2020).

Yapılan çalışmada fermantasyon süresince örneklerin pH değerlerindeki değişimler Şekil 4.5.'de verilmektedir. pH değişimleri incelendiğinde glikoz oksidaz enzimi ile birlikte glikoz ilaveli YOG (~9 saat) ve polidekstroz ilaveli YOP (~7,5 saat) örneğinin pH'sının daha yavaş azaldığı ve fermantasyonun daha uzun sürdüğü tespit edilmiştir.

Kontrol yoğurdu (Y) örneği ve ünülin içeren örneklerde (YOI) jelleşme daha kısa sürede gerçekleşmiştir (5 saat). Mikrobiyolojik sonuçlarda olduğu gibi kontrol örneklerinde bakteri sayılarının yüksek olması asitliğin artmasına ve yoğurt jelinin oluşumuna katkıda bulunmuştur. Bununla birlikte gelişme oranlarının da yüksek olması ile de bağlantılı olarak prebiyotik inülin içeren ürünlerde fermantasyon daha kısa sürede

tamamlanmıştır. YOG ve YOP örneklerinde ise enzimatik aktivitenin devam ettiği düşünülmüştür.



Şekil 4.5. Fermantasyon süresi boyunca örneklerin pH değerlerindeki değişim

Depolama süresinde pH değerlerinin değişimine ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde örnek, depolama süresi ve örnek x depolama süresi interaksiyonuna göre pH değişimi $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmaktadır.

Probiyotik yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca pH'larındaki değişime ait LSD testi sonuçları incelendiğine, örneklere göre en yüksek pH değeri polidekstroz ve glikoz oksidaz enzimi ilaveli YOP örneğinde, en düşük pH değeri ise Y ve sonrasında YO örneğinde tespit edilmiştir. Depolama süresi arttıkça beklenildiği gibi pH değerlerinde azalma saptanmıştır (Çizelge 4.6). pH değerlerindeki değişim bakteri sayındaki değişim ve gelişme oranlarına bağlı olarak benzer şekilde sonuçlanmıştır.

Yoğurda işlenen probiyotik bakterilerin canlılığının, kullanılan suşlara, bakterilerin geliştirilme koşullarına, hidrojen peroksit üretimine, pH değerine ve fermantasyon sırasındaki pH değişim hızına, son ürünün asitliğine, oluşan laktik ve asetik asit

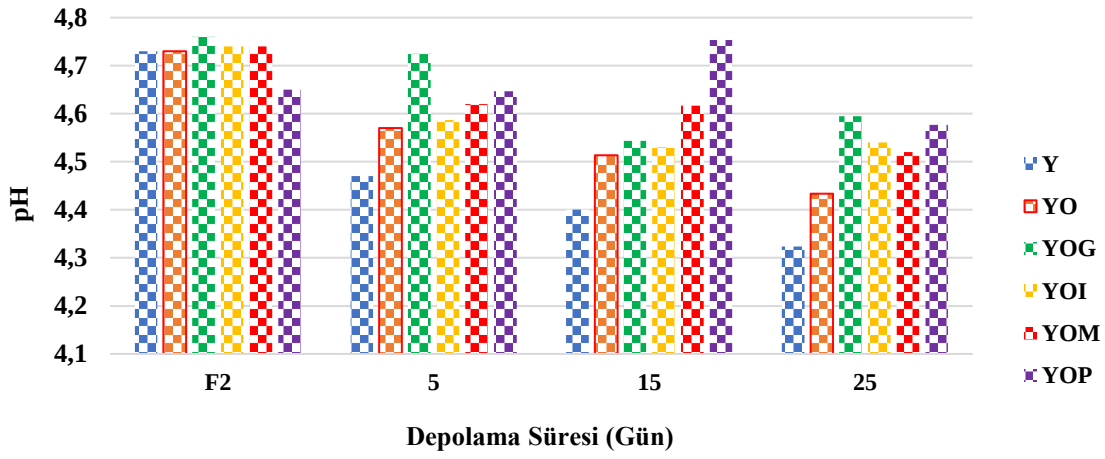
seviyesine bağlı olarak değiştiği Shah (2000) ve Cruz vd. (2010) tarafından belirtilmiştir.

Çizelge 4.6. Depolama boyunca örneklerin pH değişimine ait LSD testi sonuçları

Örnek	**N**	**pH**
Y	9	4,40^{e}
YO	9	4,50^{d}
YOG	9	4,62^{b}
YOI	9	4,55^{c}
YOM	9	4,59^{c}
YOP	9	4,66^{a}
Depolama Süresi		
5	18	4,60^{a}
15	18	4,56^{ab}
25	18	4,50^{b}
ANOVA		
Örnek (Ö)	5	**
Depolama Süresi (D)	2	**
Ö x D	10	**
Hata	36	

(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Şekil 4.6.'da depolama süresi boyunca probiyotik yoğurt örneklerindeki pH değerlerindeki değişim verilmiştir.



Şekil 4.6. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtlarda pH değerleri değişimi

4.2.2. Titrasyon Asitliği

Fermente süt ürünlerindeki asitlik derecesi jelleşmiş üründeki fermantasyon kinetiğinin önemli bir göstergesidir. Titrasyon asitliği ile ürünün tekstürel, duyusal özelliği ve serum ayrılması arasında bir etkileşim olduğu bilinmektedir. Yoğurdun titrasyon asitliği, fermantasyon süresince etkin olan starter mikroorganizmaların oluşturduğu laktik asit başta olmak üzere organik asitlerden ileri gelmektedir. Yoğurtta gelişen bu asitlik, yoğurt jelinin oluşumda büyük rol oynamaktadır (Tavşanlı & Gökmen, 2020; Ozdemir & Ozcan, 2020).

Depolama süresinde titrasyon asitliği değişimine ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde titrasyon asitliğindeki değişim örnekler ve depolama süresi açısından $p<0,01$ düzeyinde ve örnek x depolama süresi interaksiyonuna göre ise $p<0,05$ düzeyinde önemli olarak saptanmıştır (Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. Depolama boyunca örneklerin titrasyon asitliği değerleri LSD testi sonuçları (%)

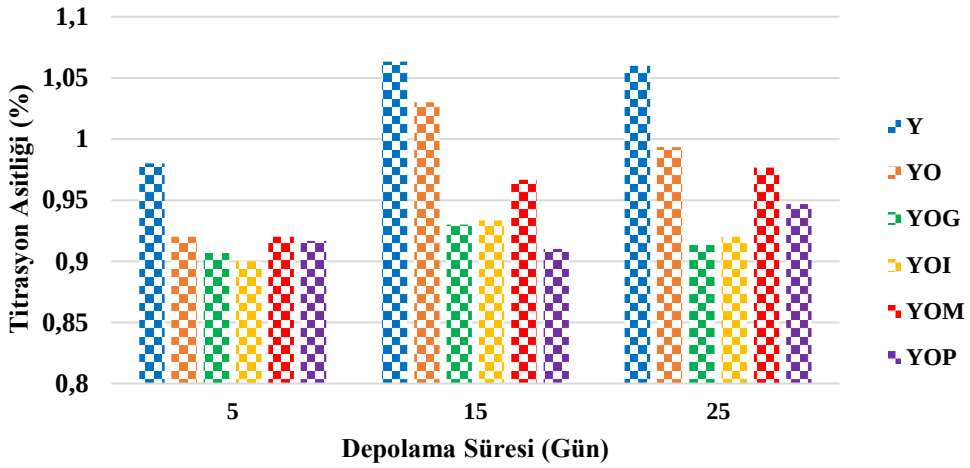
Örnek	**N**	**Titrasyon Asitliği**
Y	9	$1,03^{a}$
YO	9	$0,98^{b}$
YOG	9	$0,92^{d}$
YOI	9	$0,92^{d}$
YOM	9	$0,95^{c}$
YOP	9	$0,92^{d}$
Depolama Süresi		
5	18	$0,92^{ab}$
15	18	$0,97^{a}$
25	18	$0,97^{a}$
ANOVA		
Örnek (Ö)	5	**
Depolama Süresi (D)	2	**
Ö x D	10	*
Hata	36	

(*) $p<0,05$ düzeyinde önemli, (**) $p<0,01$ düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Probiyotik yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca titrasyon asitliği değişimlerine ait LSD testi sonuçları incelendiğinde en yüksek asitlik seviyesinin Y örneğinde, en

düşük asitliğin ise YOG, YOI ve YOP örneklerinde olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca ise belirgin bir değişim saptanmamıştır.

Şekil 4.7.'de depolama süresi boyunca probiyotik yoğurt örneklerindeki titrasyon asitliği değerlerindeki değişim verilmiştir.



Şekil 4.7. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtlarda titrasyon asitliği (%) değerlerinin değişimi

4.2.3. Serum Ayrılması

Fermente süt ürünlerinde toplam kurumadde, protein, denatüre serum proteinlerindeki değişimler ve asitlik yoğurt jelindeki serum ayrılmasını etkilemektedir. Depolama boyunca syneresis (su salma) ve zayıf pıhtı özellikleri ürünün tekstürel ve duyusal özellikleri ile tüketici tarafından kabul edilebilirliğini önemli ölçüde belirlemektedir (Salvador & Fiszman, 2004).

Örneklerin serum ayrılması değerlerine ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde örnekler ve örnek x depolama süresi interaksiyonu açısından serum ayrılması değerleri değişiminde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Depolama süresine göre

serum ayrılması değerleri incelendiğinde ise p<0,05 düzeyinde önemli değişimler saptanmıştır (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların serum ayrılması değerleri LSD testi sonuçları (mL/25gr)

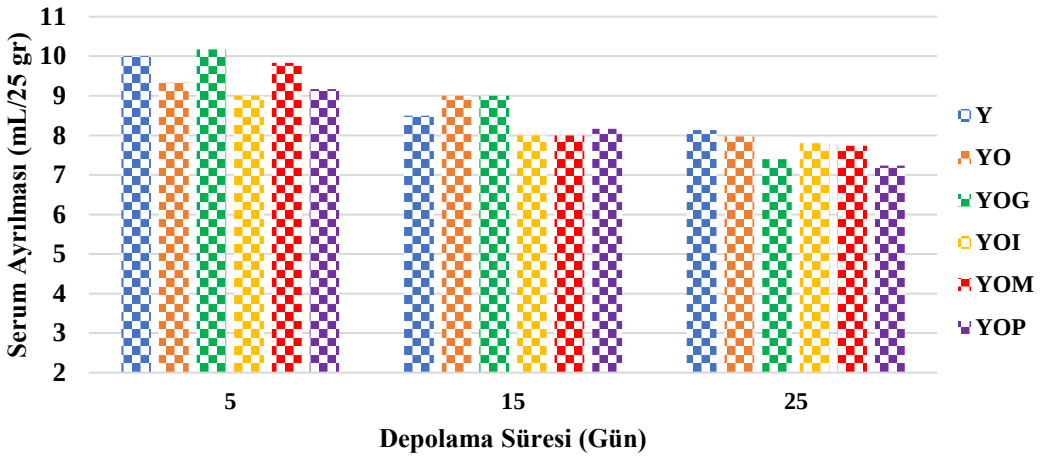
Örnek	**N**	**Serum Ayrılması**
Y	9	8,88[a]
YO	9	8,77[a]
YOG	9	8,86[a]
YOI	9	8,27[a]
YOM	9	8,52[a]
YOP	9	8,19[a]
Depolama Süresi		
5	18	9,58[a]
15	18	8,44[b]
25	18	7,71[c]
ANOVA		
Örnek (Ö)	5	ns
Depolama Süresi (D)	2	*
Ö x D	10	ns
Hata	36	

(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Örneklerin serum ayrılması değerlerine ait LSD testi sonuçlarına göre depolama süresi boyunca serum ayrılması değerinde azalma tespit edilmiştir. Depolama süresi arttıkça misel yapının bozulması ile birlikte serum ayrılması değerlerinde düşüş meydana gelmektedir (Çizelge 4.8.).

Yapılan çalışmalarda, fermente süt ürünlerine ilave edilen prebiyotik bileşenlerin ve gelişen bakterilerin oluşturduğu asitliğin fermantasyon özelliklerini değiştirerek, kazein moleküllerindeki interaksiyonlar sonucu misel yapısını güçlendirdiği, yoğurt pıhtısının su tutma kapasitesini arttırdığı ve böylelikle serum ayrılmasının azaldığı belirtilmektedir (Donkor vd., 2007; Ozdemir & Ozcan, 2020).

Şekil 4.8.'de depolama süresi boyunca probiyotik yoğurt örneklerindeki serum ayrılması değerlerindeki değişim verilmiştir.



Şekil 4.8. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların serum ayrılması değerleri

4.2.4. Su Tutma Kapasitesi

Su tutma kapasitesi ürüne ait önemli kalite kriterlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Yoğurtlarda su tutma kapasitesinin istenilen standartta olmaması yoğurt yapısının sıkılığının bozulması, topaklanma ve serum ayrılması gibi birçok tekstürel kusura neden olmaktadır (Akdeniz & Akalın, 2017).

Su tutma kapasitesi değerlerine ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde probiyotik yoğurt örnekleri arasındaki değişim, örnekler, depolama süresi ve örnek x depolama süresi interaksiyonun açısından $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.9.).

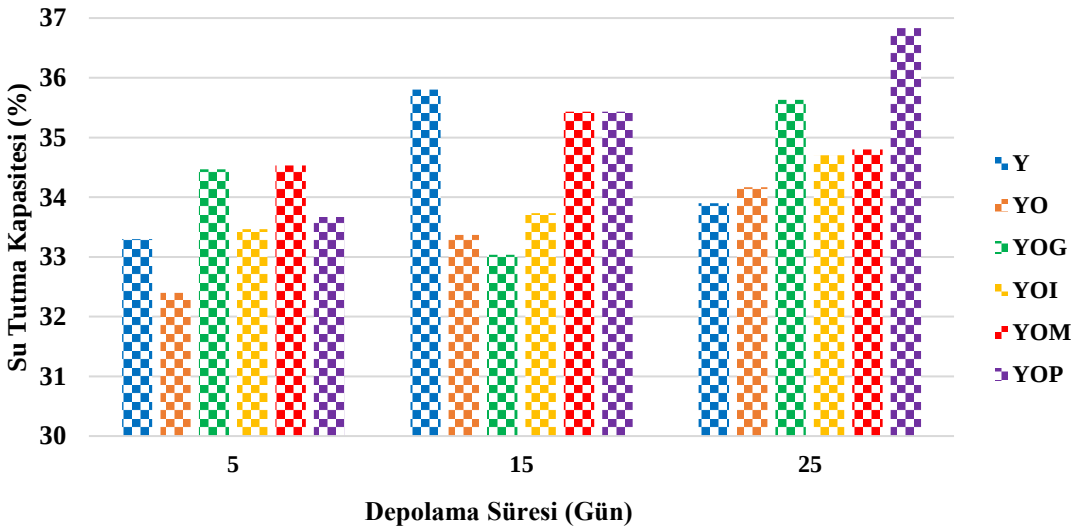
Probiyotik yoğurt örneklerinin su tutma kapasitelerine ait LSD testi sonuçları incelendiğinde en yüksek su tutma kapasitesine glikoz oksidaz enzimi ile birlikte polidekstroz ilave edilen YOP örneğinin, en düşük değere ise yalnızca enzim ilavesi yapılan YO örneğinin sahip olduğu saptanmıştır. Ancak genel olarak su tutma kapasitesi değerlerinde belirgin farklılıklar tespit edilmemiştir. Depolama boyunca ise minör derecede bir değişim ve artış saptanmıştır (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. Depolama boyunca örneklerin su tutma kapasitesi değerlerine ait LSD testi sonuçları (mL/100 mL, %)

Örnek	N	Su Tutma Kapasitesi
Y	9	34,33^{ab}
YO	9	33,31^{b}
YOG	9	34,38^{ab}
YOI	9	33,97^{b}
YOM	9	34,92^{ab}
YOP	9	35,31^{a}
Depolama Süresi		
5	18	33,64^{b}
15	18	34,47^{a}
25	18	35,01^{a}
ANOVA		
Örnek (Ö)	5	**
Depolama Süresi (D)	2	**
Ö x D	10	**
Hata	36	

(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemlidir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Şekil 4.9.'da depolama süresi boyunca probiyotik yoğurt örneklerindeki su tutma kapasitesi değerlerindeki değişim verilmiştir.



Şekil 4.9. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların su tutma kapasitesi değerleri

Su tutma kapasitesi, protein pıhtısının geçirgenliğinin belirlenmesi açısından saptanmaktadır. Prebiyotik karbonhidrat kaynaklarının ilave edildikleri ürünlerde misel yapısı güçlendirilerek son ürün tekstürüne ve serum ayrılmasına etki ettikleri Chen vd., (2020) tarafından bildirilmektedir.

4.2.5. Renk değerleri *(L*, a*, b*)*

Gıdalarda renk algısının, genel kabul edilebilirlik üzerinde önemli olduğu bilinmektedir. Işığın maddeyle etkileşimi sonucunda spektral dağılımıyla ilişkili görsel bir özellik olan renk tüketici memnuniyeti, beklentileri, seçimleri ve yeme isteklerinde büyük ölçüde belirleyicidir (Silva vd., 2022).

*L**, değerlerine ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde *L** değerlerindeki değişim $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Depolama süresi ve örnek x depolama süresi interaksiyonu açısından ise anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.

*a** değerlerindeki değişim örnek ve depolama süresi açısından $p<0,01$ düzeyinde, örnek x depolama süresi interaksiyonuna göre ise $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.10).

Örnek, depolama süresi, örnek x depolama süresi interaksiyonlarına göre *b** değerindeki değişim ise $p<0,01$ düzeyinde önemli olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).

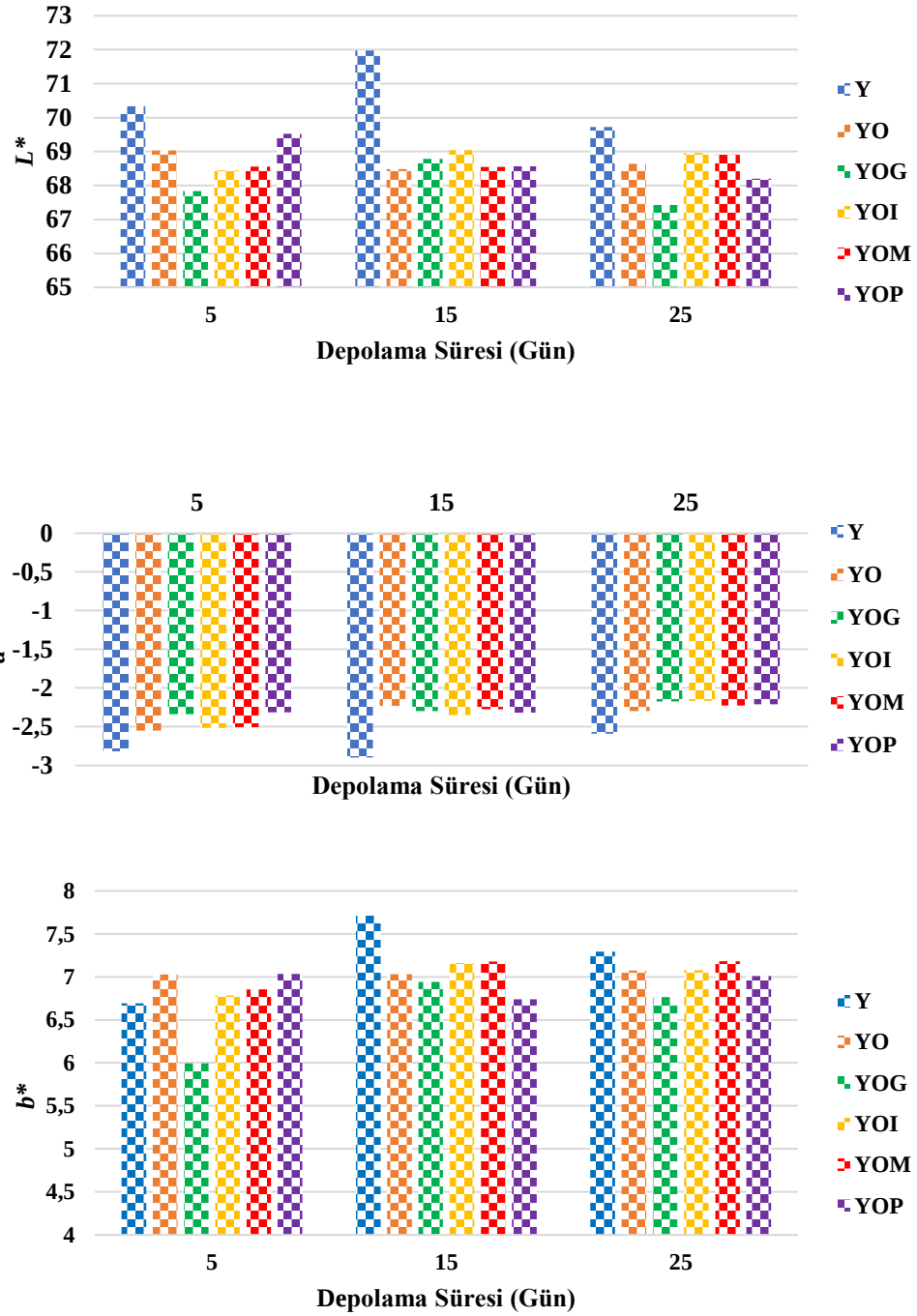
Örneklerin *L*, a*, b** renk değerlerine ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.10.'da verilmiştir. *L** değerine ait LSD testi sonuçları incelendiğinde parlaklığı gösteren *L** değerinin en yüksek ve *a** (kırmızılık/yeşillik) değeri en düşük Y kontrol örneğinde saptanmıştır. *b** (sarılık/mavilik) değerlerinde yüksek bir farklılık tespit edilmemiştir. Genel olarak renk özellikleri belirgin farklılıklar yaratmamıştır (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Depolama boyunca örneklerin *L**, *a** ve *b** renk değerlerine ait LSD testi sonuçları

Örnek	**N**	***L****	***a****	***b****
Y	9	70,67[a]	-2,77[b]	7,23[a]
YO	9	68,72[b]	-2,36[a]	7,04[a]
YOG	9	68,02[b]	-2,27[a]	6,57[b]
YOI	9	68,82[b]	-2,34[a]	7,01[a]
YOM	9	68,67[b]	-2,34[a]	7,07[a]
YOP	9	68,76[b]	-2,28[a]	6,93[a]
Depolama Süresi				
5	18	68,96[a]	-2,51[c]	6,73[b]
15	18	69,23[a]	-2,39[b]	7,12[a]
25	18	68,64[a]	-2,27[a]	7,07[a]
ANOVA				
Örnek (Ö)	5	**	**	**
Depolama Süresi (D)	2	ns	**	**
Ö x D	10	ns	*	**
Hata	36			

(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Şekil 4.10.'da depolama süresi boyunca probiyotik yoğurt örneklerindeki renk değerlerindeki değişim verilmiştir.



Şekil 4.10. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların *L**, *a** ve *b** renk değerlerindeki değişim

4.2.6. Aroma Bileşenleri

Aroma bileşenleri fermente süt ürünlerinde tüketici tarafından kabul edilebilirliği etkileyen önemli kalite özellikleri arasında sayılmaktadır. Yoğurtta fermantasyon sonucu oluşan asetaldehit ve diasetil karbonil bileşenleri yoğurdun temel aroma maddeleri olarak kabul edilmektedir. Bu aroma maddelerinin oluşumunda temel olarak starter mikroorganizmaların enzim aktiviteleri etkili olmaktadır. Fermantasyonda kullanılan mikroorganizmaların çeşitliliği, oranı ve interaksiyonları yoğurtta oluşan temel aroma bileşenlerini doğrudan etkilemektedir (Köse & Ocak, 2014).

Probiyotik yoğurt örneklerinin içerdikleri diasetil ve asetaldehit miktarları Çizelge 4.11'de verilmiştir. Varyans analizi sonuçları incelendiğinde aroma bileşenleri değişimi yoğurt örnekleri açısından $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.11'e göre en yüksek diasetil miktarı Y örneğinde, en düşük diasetil miktarı ise glikoz ilave edilen YOG örneğinde saptanmıştır. En yüksek asetaldehit miktarı karbonhidrat kaynağı ilave edilmeyen YO örneği, en düşük asetaldehit miktarı ise polidekstroz ilave edilen YOP örneğinde belirlenmiştir. Analiz sonucuna göre ilave karbonhidrat içermeyen Y ve YO örneklerinin diğer örneklere göre daha yüksek aroma bileşenleri içerdiği tespit edilmiştir. İlave edilen glikoz oksidaz enzimi ve şeker bileşeni arasındaki etkileşim sebebi ile mikroorganizmaların fermantasyon sürecinde karbonhidrat kaynağını farklı mekanizmalar ve etkinlikte kullanmasının aroma bileşenlerinin miktarında etkili olduğu düşünülmektedir.

Yoğurttaki aroma bileşimlerinin oluşumu tat oluşturan ve karbonhidrat kaynağı bileşiklerin varlığı, asitlik düzeyi ve redoks potansiyeli gibi birçok faktöre bağlı olmakla birlikte; diasetil üretimi temel olarak *S. thermophilus*'un, asetaldehit içeriği ise *L. bulgaricus*'un metabolik aktivitesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Depolama süresinde *S. thermophilus* canlılığını koruduğu sürece diasetil seviyesi yüksek olmakta ve yoğurdun kendine özgü lezzetini korunmaktadır (Cruz vd., 2013).

Çizelge 4.11. Probiyotik yoğurt örneklerin içerdikleri aroma bileşenleri miktarları (mg/kg)

Aroma Bileşenleri	**Y**	**YO**	**YOG**	**YOI**	**YOM**	**YOP**	**p**
Diasetil (mg/kg)	0,93[a]	0,58[b]	0,45[f]	0,49[d]	0,54[c]	0,48[e]	**
Asetaldehit (mg/kg)	1,84[d]	2,80[a]	1,70[e]	1,88[b]	1,87[c]	1,46[f]	**

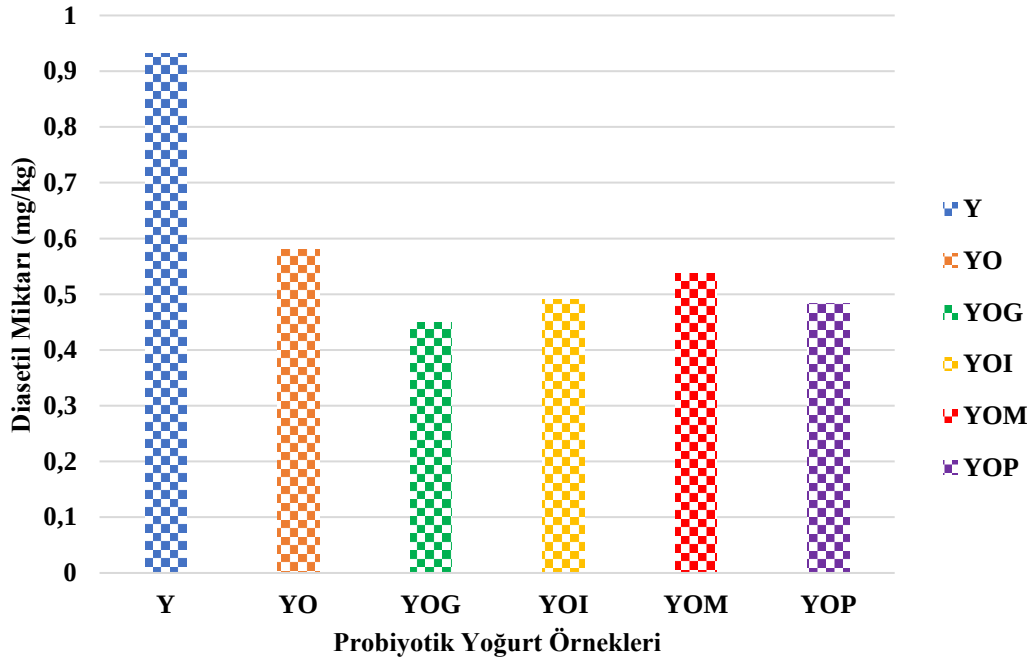
(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemlidir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Üründeki mikrobiyal kültürler arasındaki etkileşim, yoğurt starter kültürlerinin gelişmesini ve probiyotik bakterilerin canlılığını etkileyebilmektedir. Özellikle asit oluşturma yeteneği yüksek *S. thermophilus'*un probiyotik suşların gelişme potansiyelini azalttığı ve potansiyel aroma gelişimini de etkilediği bilinmektedir (Terpou vd., 2017). Sonuçlar incelendiğinde *S. thermophilus* sayısının yüksek olduğu yoğurtlarda diasetil, *L. bulgaricus* sayısının yüksek olduğu örneklerde ise asetaldehit oranının daha yüksek olduğu hipotezler ile bağlantılı olarak ortaya çıkmaktadır.

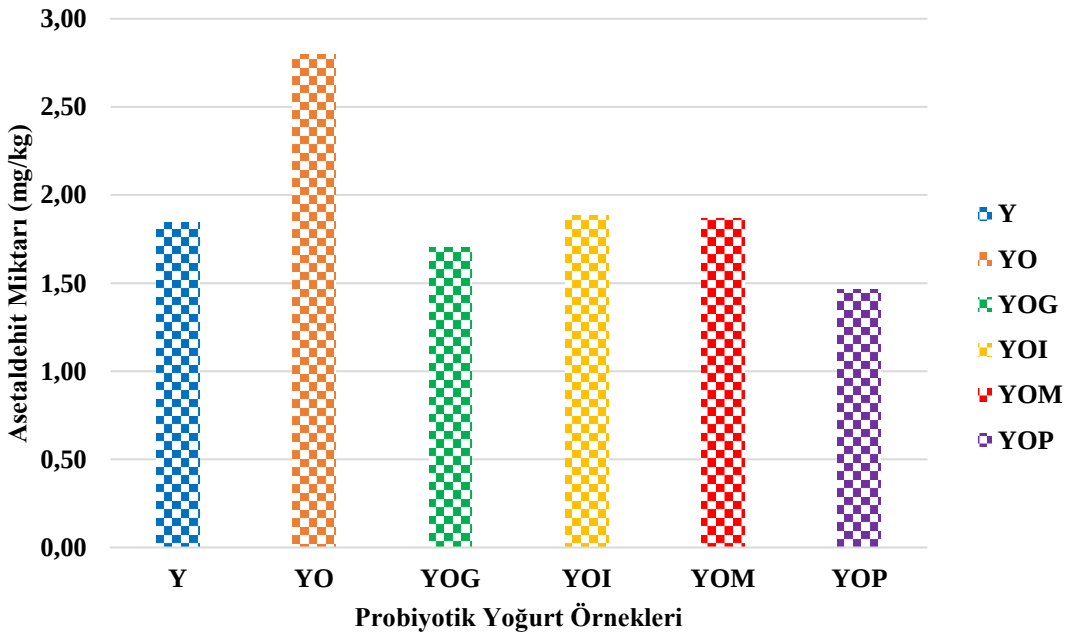
Cruz vd. (2012b) 21 günlük depolama sonunda probiyotik suşlardaki azalmanın glikoz oksidaz aktivitesinin depolama boyunca azalmasıyla ilişkili olabileceğini belirtirken, probiyotik yoğurt örneklerinin hepsinde asetaldehide göre daha yüksek oranda diasetil değerleri tespit edildiğini belirtmişlerdir.

Asetaldehit oranlardaki değişimin, yoğurt kültürlerinde bulunan treonin aldolaz aracılığıyla asetaldehitin etanole parçalanması sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Fermente sütlerde treonin'den asetaldehit oluşumunu katalize eden treonin aldolazın düşük aktivitesi nedeniyle probiyotik yoğurtların belirgin bir aroma bileşiği oluşturma kapasitesi gösterdikleri Zareba vd. (2012) ve Cruz vd. (2013) tarafından belirtilmektedir.

Şekil 4.11.'de probiyotik yoğurt örneklerindeki diasetil, Şekil 4.12.'de asetaldehit miktarları verilmiştir.



Şekil 4.11. Probiyotik yoğurtların diasetil aroma bileşeni miktarlarına ait değişim (mg/kg)



Şekil 4.12. Probiyotik yoğurtların asetaldehit aroma bileşeni miktarına ait değişim (mg/kg)

4.2.7. Organik Asitler

Fermente süt ürünlerinde kullanılan starter kültürler tarafından oluşan organik asitler pH'nın düşmesi, ürün yapısının ve teknolojik özelliklerin oluşumuna katkı sağlamaktadır. Fermentasyon sonucu oluşan organik asitler ürünün fonksiyonel yararı ile birlikte, duyusal algısı ve koruyucu etkisi sayesinde tüketici beğenisi ve raf ömrü süresi üzerinde önemli etkiye sahip bulunmaktadır (Vénica vd., 2014).

Probiyotik yoğurt örneklerinin içerdikleri organik asit miktarları Çizelge 4.12'de verilmiştir. Organik asit değerlerine ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde probiyotik yoğurt örneklerinin laktik ve asetik asit miktarlarındaki farklılıkların örnekler açısından $p<0,01$ düzeyinde önemli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.12.).

Laktik asit bakterileri tarafından laktoz tüketiminin bir sonucu olarak asetik ve laktik asit üretilmektedir. Yapılan çalışmada en yüksek laktik asit miktarı yalnızca glikoz oksidaz enzimi içeren YO örneğinde, en düşük ise glikoz ilaveli YOG örneğinde rastlanmıştır. En yüksek asetik asit miktarı polidekstroz ilaveli YOP örneğinde, en düşük ise YO örneğinde belirlenmiştir (Çizelge 4.12.).

Çizelge 4.12. Örneklerin içerdikleri organik asit miktarları (mg/kg)

Organik Asitler	**Y**	**YO**	**YOG**	**YOI**	**YOM**	**YOP**	**p**
Laktik asit (mg/kg)	8529,23^{c}	9754,89^{a}	6630,43^{f}	8689,54^{b}	8257,39^{d}	7316,54^{e}	**
Asetik asit (mg/kg)	3,45^{d}	2,81^{f}	3,72^{c}	4,60^{b}	3,17^{e}	6,58^{a}	**

(*) $p<0,05$ düzeyinde önemli, (**) $p<0,01$ düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Glikoz oksidaz enzimi ilave edilen yoğurtlarda tipik yoğurt aroması bileşenlerinin ve özellikle laktik asit ve asetik asit olmak üzere yeterli miktarlarda organik asitlerin oluştuğu Cruz vd. (2012b)'un yaptıkları çalışmada tespit edilmiştir.

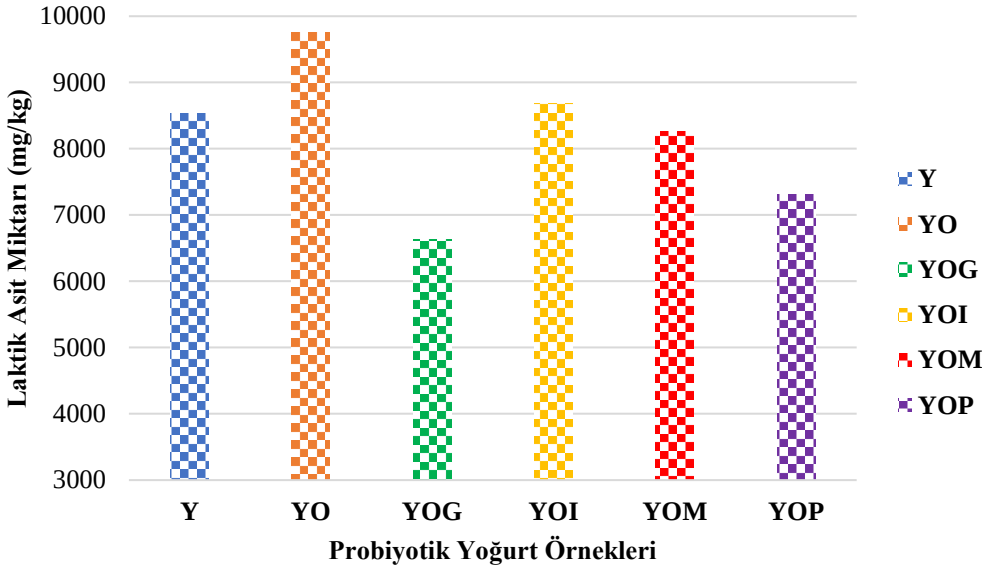
Yoğurt, laktik asit fermantasyonu ile asitliği artan sütün kazeininin pıhtılaşmasıyla sonuçlanan bir süt ürünü olarak tanımlanmaktadır. Homofermantatif olan yoğurt bakterileri laktoz, glikoz ve fruktozu fermente ederek, fermantasyon sonucunda laktik asit, asetaldehit, etil alkol ve uçucu yağ asitlerini oluşturmaktadır (Ozcan vd. 2021).

Probiyotik bakterilerden ise *L. acidophilus* türleri bir molekül glikozdan iki molekül laktik asit üreten homofermentatif bakterilerdir (Fazio vd., 2020). Heterofermentatif olan *B. animalis* subsp. *lactis* ise glikozu laktik asit, asetik asit ve diğer uçucu bileşiklere dönüştürmektedir. *Bifidobacterium* türlerinin glikoz fermantasyonu ile CO_2 oluşturmaksızın, Fruktoz-6-fosfat yolu ile fermantasyonu sonucu (3:2) oranında; asetik asit ve L(+) laktik asit oluşturmaktadır (Zareba vd., 2012).

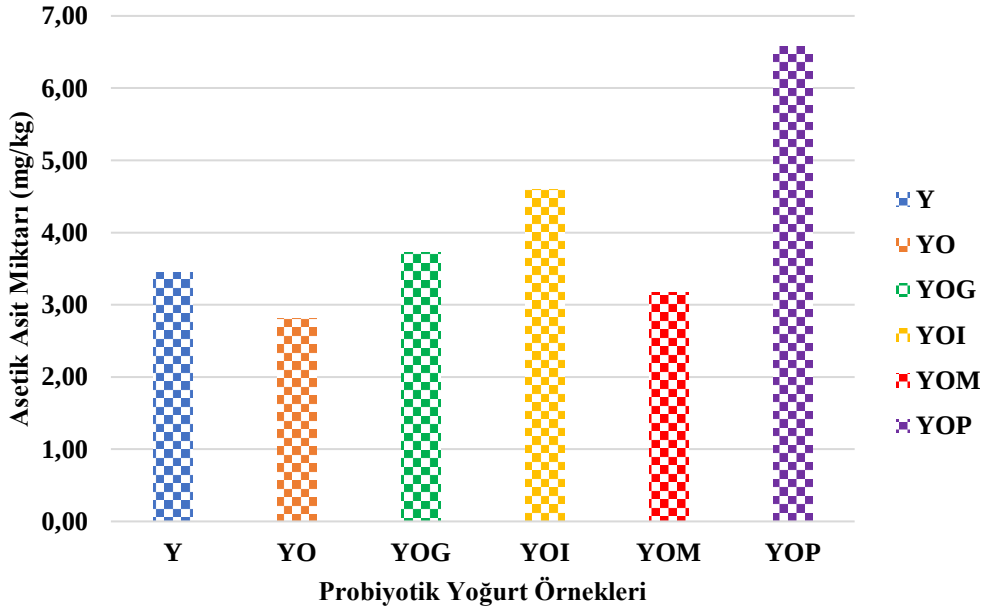
Sonuçlar incelendiğinde laktik asit ve asetik asit üretiminin fermantasyonda kullanılan suşların metabolik aktiviteleri, süt matriksi bileşimi, kullanılan prebiyotik karbonhidrat kaynağının özelliği ve bakteri gelişim kinetiklerine göre değiştiği söylenebilir (Çizelge 4.12.).

Probiyotik yoğurt örneklerinde farklı ambalaj materyali ve glikoz oksidaz enzimi kullanımının bakterilerin metabolik aktivitelerine olumlu etkisinin olduğu ve laktik asit, asetik asit, diasetil ve asetaldehit değerleri ile birlikte bakterilerin ürettiği organik asit miktarlarının arttığı Cruz vd. (2013) tarafından belirtilmektedir.

Şekil 4.13.'de probiyotik yoğurt örneklerindeki laktik asit miktarı ve Şekil 4.14.'de asetik asit miktarları verilmektedir.



Şekil 4.13. Probiyotik yoğurtların laktik asit miktarları (mg/kg)



Şekil 4.14. Probiyotik yoğurtların asetik asit miktarları (mg/kg)

4.3. Tekstürel analizler

Yoğurdun tekstürel özellikleri yoğurt kalitesini etkileyen başlıca faktörlerden birisidir. Standardizasyon, homojenizasyon, ısıl işlem, inkübasyon koşulları, kullanılan starter kültürler ve depolama koşulları gibi yoğurt prosesini içeren birçok etken yoğurdun tekstürel özellikleri üzerinde değişiklik oluşturmaktadır (Lee & Lucey, 2004).

Tekstür profil analizi, gıdanın ağızdaki çiğneme hareketine benzer şekilde sıkıştırma teknikleri ile çiğneme modelinin taklit edilmesi prensibine dayanmakta, ürünün jel yapısı ağızda işleme özellikleri ve tüketici beğenisi açısından bilgi vermektedir (Özcan & Yıldız, 2016).

4.3.1. Sıkılık

Yoğurtta önemli tekstür parametrelerinden birisi olan sıkılık (firmness), gıdanın deformasyonu için uygulanması gereken maksimum kuvvet olarak tanımlanmaktadır (Izadi vd., 2015). Duyusal açıdan ise, gıdanın dişler arasında veya dil ile damak arasında sıkıştırılmasıyla oluşturulacak deformasyon/değişim için gerekli kuvvet olarak açıklanmaktadır (Ozcan, 2013).

Varyans analizi sonuçlarına göre sıkılık değerleri değişimi örnekler açısından $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunurken, depolama süresi ve örnek x depolama süresi interaksiyonu açısından $p<0,05$ düzeyinde önemli olarak saptanmıştır (Çizelge 4.13.).

Örneklerin sıkılık değerlerine ait LSD testi sonuçlarına göre örnekler arasında en yüksek sıkılık değerleri Y örneğinde, daha düşük sıkılık değerleri ise glikoz ilave edilen YOG ve polidekstroz ilave edilen YOP örneklerinde saptanmıştır. Glikoz oksidaz enzimi ve prebiyotik şeker ilave edilmeyen örneklere göre Y örneğinin sıkılık değerinin depolama süresi boyunca daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.13.). Glikoz oksidaz-prebiyotik karbonhidratlar arasındaki interaksiyon sebebi ile yoğurt örneklerinde bakteri/asitlik gelişimi ve jel yapısının oluşumundaki biyokimyasal değişmeler sıkılık değerlerinde örnekler arasında farklılıklar meydana getirmiştir. Depolama boyunca ise önemli olmayan bir değişim ortaya çıkmıştır. Glikoz oksidaz

enziminin tekstürel özelliklerde küçük değişimler yarattığı Cruz vd. (2010) ve Cruz vd. (2012b) tarafından da belirtilmiştir.

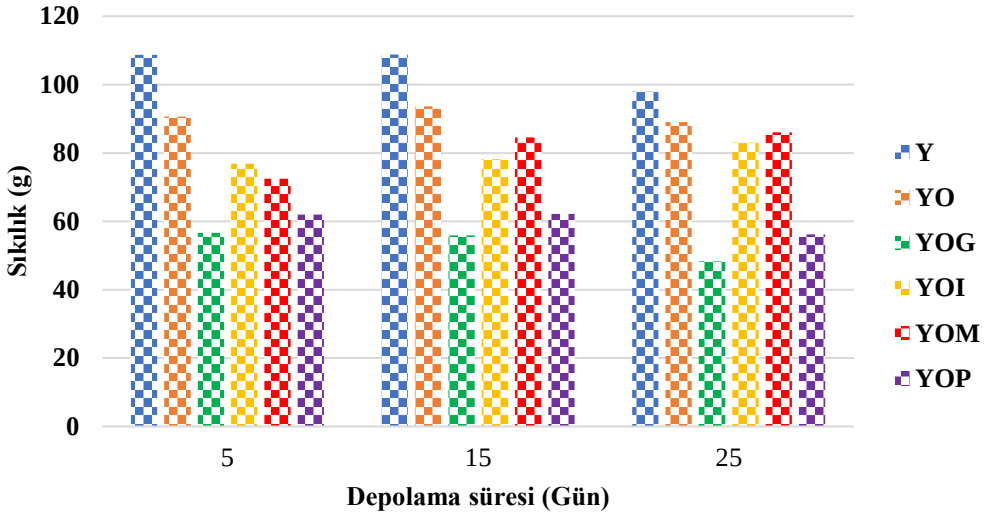
Çizelge 4.13. Depolama boyunca örneklerin sıkılık değerlerine ait LSD testi sonuçları (g)

Örnek	N	Sıkılık
Y	9	105,13[a]
YO	9	91,08[b]
YOG	9	53,62[d]
YOI	9	79,40[c]
YOM	9	81,02[c]
YOP	9	60,13[d]
Depolama Süresi		
5	18	77,89[ab]
15	18	80,54[a]
25	18	76,77[ab]
Örnek (Ö)	5	**
Depolama Süresi (D)	2	*
Ö x D	10	*
Hata	36	

(*) $p<0,05$ düzeyinde önemli, (**) $p<0,01$ düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Yoğurt, belirli reolojik ve yapısal özelliklere sahip fermente bir süt ürünüdür. Yoğurdun tekstürü, hidrofobik ve elektrostatik bağlar yoluyla kazein misellerinin denatüre peynir altı suyu proteinleriyle bir araya gelmesi sonucunda süt proteinlerinin üç boyutlu ağının gelişmesi olarak şekillenmektedir. Bu ağ yapısının içinde yer alan karbonhidratlar, proteinler ve su molekülleri bir etkileşim içerisinde yoğurt jelinin mikroyapısını belirlemektedir (Paseephol vd., 2008).

Şekil 4.13.'de depolama süresi boyunca probiyotik yoğurt örneklerindeki sıkılık değerlerindeki değişim verilmiştir.



Şekil 4.15. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların sıkılık değerleri değişimi

4.3.2. Konsistens

Ürünün konsistensi, yoğunluk ve kıvam ile ilişkilendirilmekle birlikte, konsistensin yüksek olması yoğurt makro/mikro yapısının iyi geliştiğini göstermektedir (Yildiz & Ozcan, 2019).

Probiyotik yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca konsistens değerlerindeki değişim Çizelge 4.14.'de verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre konsistens değerleri değişimi örnekler ve depolama süresine göre $p<0,01$ düzeyinde, örnek x depolama süresi interaksiyonu açısından ise $p<0,05$ düzeyinde önemli olarak tespit edilmiştir.

Örneklerin konsistens değerlerine ait LSD testi sonuçları incelendiğinde en yüksek konsistens değerine Y örneğinde, en düşük değer ise glikoz ve glikoz oksidaz enzimi ilaveli YOG örneğinde rastlanmıştır. Depolama süresi açısından belirgin bir değişim tespit edilmemiştir. Genel olarak inulin ve maltodekstrin ilavesi prebiyotik bileşenler arasında yoğurt jelinin sıkılığında ve gelişiminde daha fazla bir iyileşme sağlamıştır (Çizelge 4.14.).

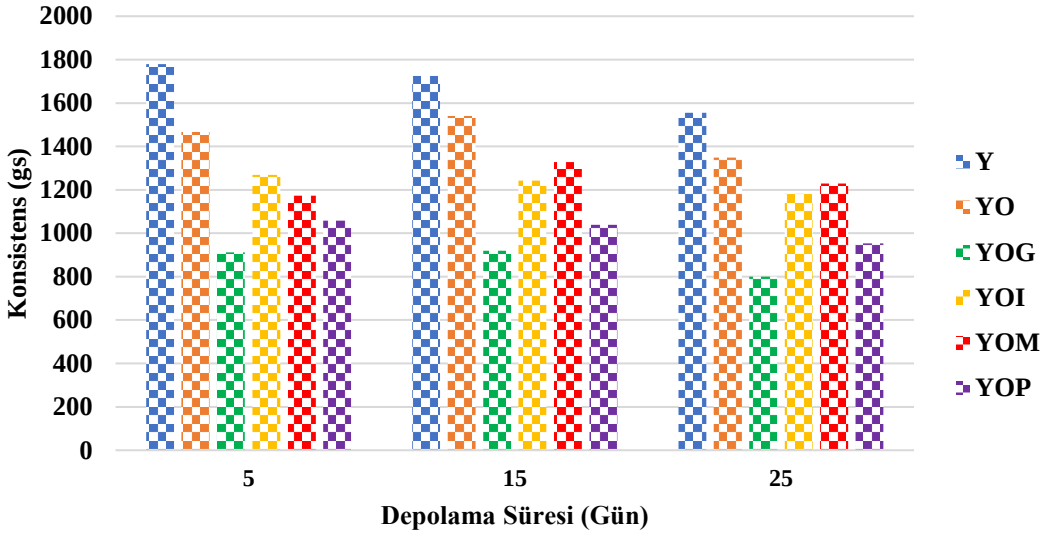
İnülinin tekstür geliştirici ve stabilize edici etkisi, su bağlama yeteneğinin yüksekliği ve proteinler ile oluşturduğu interaksiyonlara bağlı olarak viskozitenin artması olarak Schaller-Povolny & Smith (2001) ve Meyer vd. (2011) tarafından açıklanmaktadır. Maltodekstrinin yoğurt tekstürünü geliştirici etkisi El-Komaily vd. (2022)'ın yaptığı çalışmada belirtilmektedir.

Çizelge 4.14. Depolama boyunca örneklerin konsistens değerlerine ait LSD testi sonuçları (gs)

Örnek	**N**	**Konsistens**
Y	9	1686,70[a]
YO	9	1451,40[b]
YOG	9	876,87[e]
YOI	9	1231,14[c]
YOM	9	1243,11[c]
YOP	9	1016,87[d]
Depolama Süresi		
5	18	1276,33[a]
15	18	1298,82[a]
25	18	1177,89[ab]
Örnek (Ö)	5	**
Depolama Süresi (D)	2	****
Ö x D	10	*
Hata	36	

(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Şekil 4.14.'de depolama süresi boyunca probiyotik yoğurt örneklerindeki konsistens değerlerindeki değişim verilmiştir.



Şekil 4.16. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların konsistens (gs) değerlerindeki değişim

4.3.3. İç Yapışkanlık

Duyusal olarak iç yapışkanlık, gıda yüzeyi ile diş, damak yüzeyi arasındaki çekime karşı koymak için gerekli güç olarak tanımlanmakta; tekstürel anlamda ise güçlü bir bağ dokusunu ifade etmektedir. Tekstür analizinde iç yapışkanlık, ikinci sıkıştırma sonrası oluşan pozitif alanın, birinci sıkıştırma sonucu oluşan pozitif alana oranı ile açıklanmaktadır (Delikanli & Ozcan, 2014).

Probiyotik yoğurt örneklerinin iç yapışkanlık değerlerindeki değişim Çizelge 4.15.'de verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre iç yapışkanlık değerleri örnekler ve depolama süresine göre $p<0,01$ düzeyinde, örnek x depolama süresi interaksiyonu açısından ise $p<0,05$ düzeyinde önemli olarak tespit edilmiştir.

Jel yapısının özelliği esas olarak protein ağ yapısının şekli ve protein bağlarının gücü ile ilişkilendirilmektedir. Probiyotik yoğurt örneklerinde iç yapışkanlık değerlerine ait LSD testi sonuçları incelendiğinde en yüksek iç yapışkanlık değeri kontrol olarak kabul edilen Y örneğinde, düşük iç yapışkanlık değeri ise glikoz oksidaz enzimi ile birlikte glikoz şekeri ilave edilen YOG örneğinde saptanmıştır (Çizelge 4.15.).

Çizelge 4.15. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların iç yapışkanlık değerlerine ait LSD testi sonuçları **(g)**

Örnek	N	İç Yapışkanlık
Y	9	-82,60[a]
YO	9	-53,88[b]
YOG	9	-34,92[e]
YOI	9	-45,88[bc]
YOM	9	-47,75[c]
YOP	9	-41,76[d]
Depolama Süresi		
5	18	-55,92[a]
15	18	-53,08[a]
25	18	-44,39[b]
Örnek (Ö)	5	**
Depolama Süresi (D)	2	****
Ö x D	10	*
Hata	36	

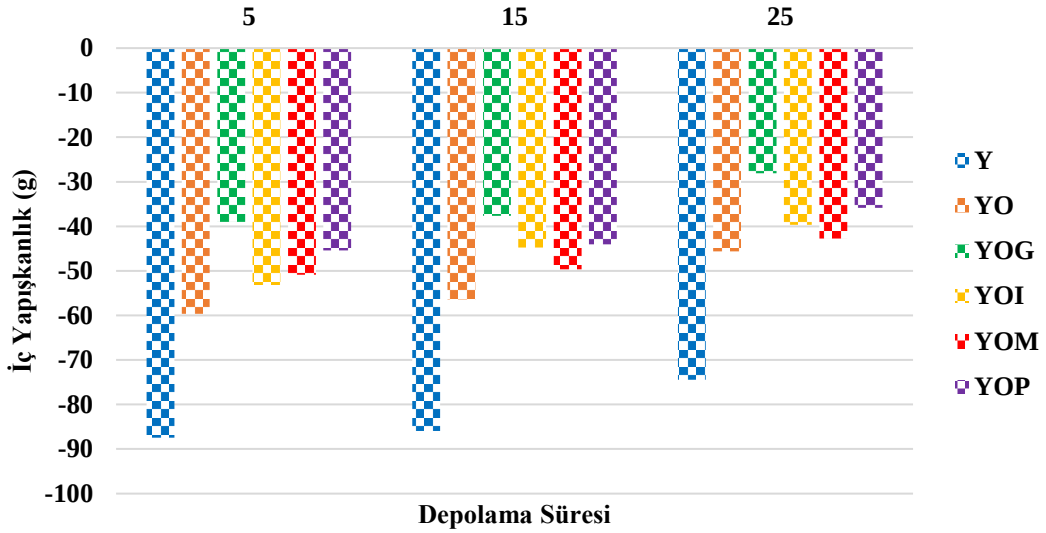
(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Süt fermantasyonu sürecinde rol oynayan laktik asit bakterilerinin oluşan son üründe tekstürü/viskoziteyi arttırmak ve serum ayrılmasını azaltmak gibi etkilerinin olduğu ve fermantasyon süresince bakteriyel gelişiminin yoğurdun jel yapısı oluşumu üzerine etkisi bilinmektedir (Milci & Yaygın, 2005). En düşük iç yapışkanlık değerine sahip olan YOG örneğinde, bakteriyel gelişimin ve gelişme oranın da genel olarak düşük olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde en yüksek bakteri sayılarının kaydedildiği Y örneğinde de en yüksek iç yapışkanlık değerleri tespit edilmiştir (Çizelge 4.1., Çizelge 4.15., Çizelge 4.8., Çizelge 4.12.)

Depolama süresine göre iç yapışkanlık değerleri incelendiğinde daha yüksek değerlerin depolamanın 5. ve 15. günlerinde tespit edildiği, depolamanın 25. gününde az oranda bir azalma gösterdiği belirlenmiştir. Diğer tekstür parametrelerine benzer şekilde inülin ve maltodekstrin içeren örneklerde iç yapışkanlık değerleri daha yüksek olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.15.). Sıvı faz içinde inülin kümeleri ve kristallerinin suyu

hapsederek jel mikroyapsını daha sıkı bir şekle dönüştürdüğü Bot vd. (2004) tarafından belirtilmektedir. Bu sistemlerde inülin, su moleküllerini bağlama kabiliyetine sahip bir yardımcı çözünen olarak davranmakta ve dolayısıyla çözelti viskozitesini arttırmaktadır.

Şekil 4.17.'de depolama süresi boyunca probiyotik yoğurt örneklerindeki iç yapışkanlık değerlerindeki değişim verilmiştir.



Şekil 4. 17. Depolama boyunca örneklerin iç yapışkanlık (g) değerlerindeki değişim

4.3.4 Viskozite İndeksi

Sıvılarda akmaya karşı direnç olarak tanımlanan viskozite, fermente süt ürünlerinde fermantasyona bağlı olarak kazein misellerinin agregasyonu ve jel yapısının oluşumu ile ilişkilendirilmektedir (Karaman & Ozcan, 2021).

Örneklerin varyans analizi sonuçları değerlendirildiğinde, viskozite indeksi değerlerindeki değişim örnek, depolama süresi ve örnek x depolama süresi interaksiyonları açısından $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.16. Depolama boyunca örneklerin viskozite indeksi değerlerine ait LSD testi sonuçları **(gs)**

Örnek	N	Viskozite İndeksi
Y	9	-125,71[a]
YO	9	-84,93[b]
YOG	9	-62,28[d]
YOI	9	-73,06[c]
YOM	9	-73,74[c]
YOP	9	-65,26[d]
Depolama Süresi		
5	18	-89,17[a]
15	18	-85,34[a]
25	18	-67,99[b]
Örnek (Ö)	5	**
Depolama Süresi (D)	2	**
Ö x D	10	**
Hata	36	

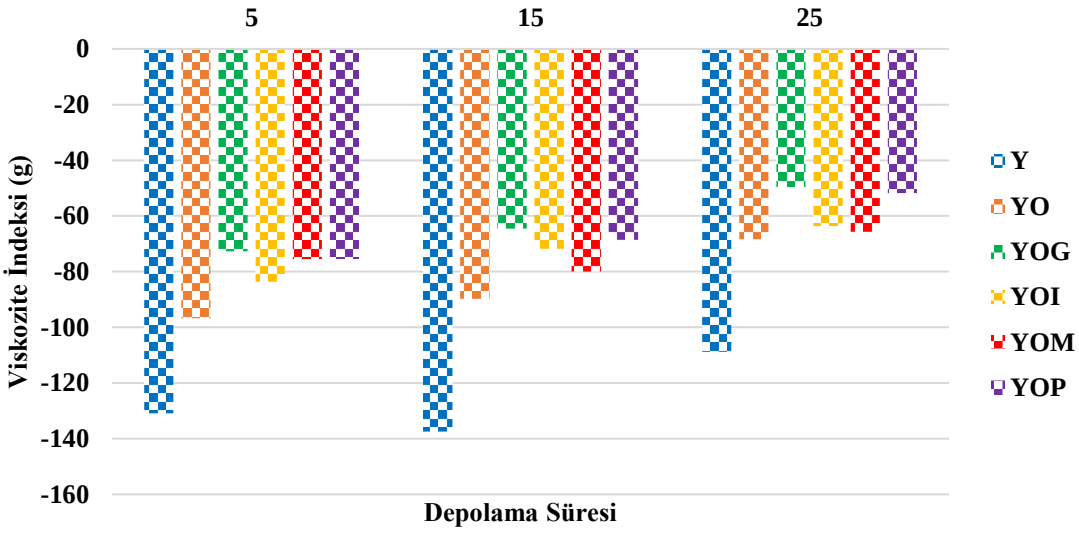
(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

Viskozite indeksi değerlerine göre LSD testi sonuçları incelendiğinde en yüksek değer Y örneğinde, en düşük değer ise YOG ve YOP örneklerinde tespit edilmiştir. Depolama süresi sonunda viskozite indeksi değerlerinde düşüş olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.16.). Maltodekstrinin H-köprüleri ile oluşturduğu protein bağlanmaları suyu sistemde bağlayıcı etki, inülin ise jel oluşturma yeteneği ve jel kuvvetini artırıcı özelliği ile viskoziteyi arttırıcı etki göstermektedir (Paseephol vd., 2008; Raju &Pal, 2011).

Benzer şekilde bu iki prebiyotik bileşen yapıyı geliştirmiştir. Polidekstroz içeren örneklerde düşük mikrobiyel gelişme ile birlikte zayıf bir yapı ve tekstürel parametreler ortaya çıkmıştır. Her bir prebiyotik bileşenin farklı yapıları ve kimyasal bileşimlerinin bu değişimlerde etkili olduğu düşünülmektedir. Polidekstroz oldukça dallanmış polimerinde esas olarak glikoz ve az miktarda sorbitol ve sitrik asit içerirken, inülin esas olarak fruktozdan oluşmakta ve polimerinde az miktarda glikoz bulunmaktadır. Bu

dallanmış yapılardaki protein karbonhidrat etkileşimleri pıhtı stabilitesi ve mikro yapısını etkilemektedir

Şekil 4.18.'de depolama süresi boyunca probiyotik yoğurt örneklerindeki viskozite indeksi değerlerindeki değişim verilmiştir.



Şekil 4.18. Depolama süresi boyunca probiyotik yoğurtların viskozite indeksi (gs) değerlerindeki değişim

4.4. Duyusal Özellikler

Duyusal nitelikler (tat ve doku/ağız hissi) tüketici beğenisi açısından önemli kalite parametreleridir. Probiyotik yoğurt örneklerinin duyusal değerlendirmesinde hedonik test/tüketici beğenisi ve duyusal kantitatif tanımlama analizleri (QDA) gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 17 ve Çizelge 18 'de depolama boyunca probiyotik yoğurt örneklerinin hedonik test - tüketici beğenisine ait duyusal değerlendirme LSD testi sonuçları verilmektedir.

Probiyotik yoğurt örneklerinin tüketici beğenisine ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde; örneklerin parlaklık, serum ayrılması, tatlılık, fermente süt tadı özelliklerinde anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge17, Çizelge18).

Renk, duyusal asitlik, aroma, koku, after taste, pürüzsüzlük ve sıkılık gibi duyusal özelliklere ait varyans analizi sonuçlarına göre belirtilen parametreler açısından $p<0,05$, genel kabul edilebirlik ve satın alma niyeti özellikleri açısından ise $p<0,01$ düzeyinde farklılıklar saptanmıştır (Çizelge17, Çizelge18).

Genel olarak örnekler farklı gruplarda yer alsa da birbirine yakın beğeni ve duyusal özellikler tanımlanmıştır. Önemli olarak belirlenen parametreler açısından karbonhidrat kaynağı olarak glikoz ve glikoz oksidaz enzimi içeren örneklerde duyusal beğeni biraz daha düşük olarak kaydedilmiştir. Genel kabul edilebirlirlik ve satın alma niyeti açısından da bu örnek diğer örneklerden daha düşük skorlara sahip olmuştur (Çizelge17, Çizelge18).

Örnekler depolama süresi açısından incelendiğinde renk ve parlaklık değerlerine ait varyans analizi sonuçları $p<0,01$ düzeyinde, after taste özelliği ise $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Serum ayrılması, duyusal asitlik, tatlılık, fermente süt tadı, aroma, koku, pürüzsüzlük, sıkılık, genel kabul edilebilirlik ve satın alma niyeti özellikleri depolama süresi açısından incelendiğinde anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Çizelge 17, Çizelge 18). Genel olarak renk, parlaklık ve after taste değerlerinde depolama sonunda az bir düşüş saptanmıştır.

Örneklerin spesifik duyusal özelliklerine (QDA) ait varyans analizi sonuçları örnekler açısından incelendiğinde; parlaklık, pürüzsüzlük, ekşilik, burukluk, aroma yoğunluğu, yabancı ve tat/aroma, kremamsı yapı, pütürlü/taneli yapı, kumlu yapı ve ağzı kaplama özellikleri açısından örneklerde anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Serum ayrılması, sıkılık, kaşık girintisi, tatlılık, acılık, fermente süt tadı, asetaldehit aroması ve yavanlık özellikleri $p<0,05$ düzeyinde, yapışkanlık özelliği ise $p<0,01$ düzeyinde önemli olarak bulunmuştur (Çizelge 19, Çizelge 20).

Probiyotik yoğurtlarda, parlaklık, serum ayrılması, tatlılık, burukluk, yabancı tat ve aroma, pütürlü/taneli yapı, kumlu yapı ve yapışkanlık özelliklerinin depolama süresine göre değişiminde önemli farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,01$). Pürüzsüzlük, ekşilik, aroma yoğunluğu, asetaldehit aroması ve kremamsı yapı özelliklerinin depolama süresine göre değişimleri $p<0,05$ düzeyinde önemli olarak saptanmıştır. Sıkılık, kaşık girintisi, acılık, fermente süt tadı ve yavanlık özelliklerinin depolama süresine göre değişimi ise $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 19, Çizelge 20).

Örneklerin duyusal-QDA değerlerine ait varyans analizi sonuçları örnek çeşidi ve depolama süresi interaksiyonu açısından incelendiğinde; parlaklık, serum ayrılması, pürüzsüzlük, ekşilik, tatlılık, burukluk, aroma yoğunluğu, yabancı tat ve aroma, kremamsı yapı, pütürlü/taneli yapı, kumlu yapı, yapışkanlık ve ağzı kaplama hissi değerlerinde anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 19, Çizelge 20, Çizelge 21).

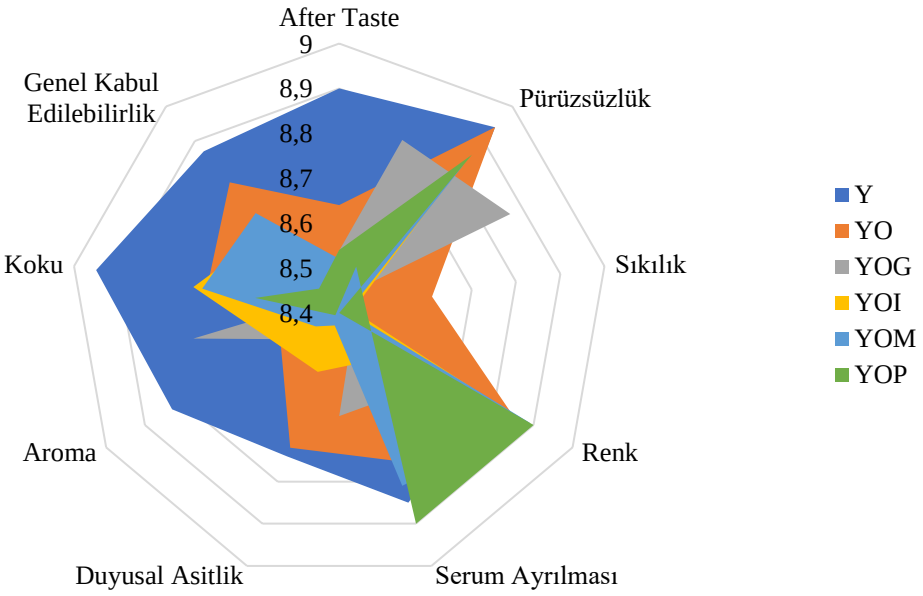
Probiyotik yoğurt örneklerinin önemli duyusal QDA değerlendirme sonuçlarına ait LSD testi incelendiğinde; serum ayrılması YOM (0,19) örneğinde az da olsa tespit edilmiştir. Sıkılık değeri Y (9,63) ve YO (9,23) örneklerinde yüksektir ve aynı örneklerde kaşık girintisi değeri de daha fazladır. Tatlılık değeri YOG (9,05) örneğinde en yüksek, Y (7,72) ve YOM (7,64) örneklerinde daha düşük iken, acılık değeri ise örneklerde düşük ve 0,22> dir.

Fermente süt tadının en yüksek Y (9,84) örneğinde ve daha düşük YOG (8,50), YOI (8,52) ve YOP (8,15) örneklerinde; asetaldehit aromasının en yüksek Y (9,75) örneğinde ve daha düşük YOP (8,12) örneğinde olduğu belirlenmiştir. Yavan tat YOP (0,72) ve yapışkanlık YOG (2,44) örneğinde düşük de olsa tanımlanmıştır (Çizelge 19, Çizelge 20, Çizelge 21).

Örneklerin QDA- LSD testi sonuçları depolama açısından incelendiğinde; sıkılık, kaşık girintisi ve pürüzsüzlük değerleri depolama süresi boyunca artmıştır. Ekşilik değeri depolamanın 15. gününde (7,68) ve 25. gününde (7,90) en yüksek seviyede saptanmıştır. Tespit edilen acılık değeri depolama ile azalmıştır (0,00). Fermente süt

tadı (9,49) ve aroma yoğunluğu (10,57) depolamanın 25. gününde en yüksek seviyede tespit edilmiştir. Asetaldehit aroması, kremamsı yapı ve ağzı kaplama hissi değerlerinin depolama süresi boyunca arttığı belirlenmiştir. Depolamanın 25. gününde asetaldehit aroması (9,62), kremamsı yapı (11,12) ve ağzı kaplama hissi (11,32) değerlerinin en yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir. Depolama başında tespit edilen yavan tat (0,75) depolama sonunda saptanmamıştır (0,00) (Çizelge 19, Çizelge 20, Çizelge 21).

Şekil 4.19.'da probiyotik yoğurt örneklerinin önemli hedonik-duyusal özelliklerindeki örnekler arası değişim grafiği verilmektedir.



Şekil 4.19. Probiyotik yoğurtların önemli hedonik-duyusal özelliklerindeki örnekler arası değişim grafiği

Çizelge 4.17. Depolama boyunca probiyotik yoğurt örneklerinin hedonik test - tüketici beğenisine ait duyusal analiz LSD testi sonuçları[+]

Örnek	N	Renk	Parlaklık	Serum Ayrılması	Duyusal Asitlik	Tatlılık	Fermente Süt Tadı	Aroma	Koku
Y	21	8,78^{ab}	8,78^{a}	8,85^{ab}	8,74^{a}	8,57^{a}	8,74^{a}	8,83^{a}	8,95^{a}
YO	21	8,84^{a}	8,83^{a}	8,75^{ab}	8,72^{a}	8,31^{a}	8,59^{a}	8,55^{a}	8,70^{ab}
YOG	21	8,52^{b}	8,67^{a}	8,31^{b}	7,99^{b}	8,39^{a}	8,24^{a}	7,96^{b}	8,45^{b}
YOI	21	8,81^{a}	8,82^{a}	8,52^{ab}	8,54^{a}	8,40^{a}	8,55^{a}	8,55^{a}	8,73^{ab}
YOM	21	8,89^{a}	8,80^{a}	8,81^{ab}	8,43^{ab}	8,38^{a}	8,54^{a}	8,46^{ab}	8,71^{ab}
YOP	21	8,90^{a}	8,86^{a}	8,90^{a}	8,29^{ab}	8,25^{a}	8,30^{a}	8,41^{ab}	8,59^{ab}
Depolama Süresi (gün)									
5	42	8,80^{ab}	8,82^{ab}	8,89^{a}	8,47^{a}	8,36^{a}	8,48^{a}	8,46^{a}	8,72^{a}
15	42	8,95^{a}	8,91^{a}	8,64^{a}	8,45^{a}	8,29^{a}	8,40^{a}	8,47^{a}	8,63^{a}
25	42	8,61^{b}	8,65^{b}	8,55^{a}	8,44^{a}	8,50^{a}	8,60^{a}	8,45^{a}	8,70^{a}
ANOVA									
Örnek (Ö)	5	*	ns	ns	*	ns	ns	*	*
Depolama Süresi (D)	2	**	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Ö x D	10	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Hata	108								

(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

[+]**9-** Son derece beğendim, **8-** Çok beğendim, **7-** Orta derece beğendim, **6-** Az beğendim, **5-**Ne beğendim ne beğenmedim, **4-**Biraz beğenmedim, **3-** Orta derece beğenmedim, **2-** beğenmedim, **1-**Hiç beğenmedim

Çizelge 4.18. Depolama boyunca probiyotik yoğurt örneklerinin hedonik test - tüketici beğenisine ait duyusal analiz LSD testi sonuçları[+,++]

Örnek	N	After Taste	Pürüzsüzlük	Sıkılık	Genel Kabul Edilebilirlik	Satın Alma Niyeti
Y	21	8,90[a]	8,94[a]	8,60[a]	8,87[a]	4,93[a]
YO	21	8,64[a]	8,94[a]	8,61[a]	8,78[a]	4,77[a]
YOG	21	8,17[b]	8,47[b]	8,07[b]	8,17[b]	4,25[b]
YOI	21	8,50[ab]	8,77[ab]	8,43[ab]	8,64[ab]	4,69[a]
YOM	21	8,52[ab]	8,83[a]	8,42[ab]	8,69[a]	4,67[a]
YOP	21	8,54[ab]	8,86[a]	8,40[ab]	8,47[ab]	4,58[ab]
Depolama Süresi (gün)						
5	42	8,51[ab]	8,70[a]	8,31[a]	8,55[a]	4,70[a]
15	42	8,80[a]	8,87[a]	8,34[a]	8,59[a]	4,63[a]
25	42	8,33[b]	8,83[a]	8,62[a]	8,68[a]	4,62[a]
ANOVA						
Örnek (Ö)	5	*	*	*	**	**
Depolama Süresi (D)	2	*	ns	ns	ns	ns
Ö x D	10	*	ns	ns	ns	ns
Hata	108					

(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

[+]**Hedonik: 9-** Son derece beğendim, **8-** Çok beğendim, **7-** Orta derece beğendim, **6-** Az beğendim, **5-**Ne beğendim ne beğenmedim, **4-**Biraz beğenmedim, **3-** Orta derece beğenmedim, **2-** beğenmedim, **1-**Hiç beğenmedim

[+,+]**Satın Alma Niyeti: 5-** Kesinlikle satın alırım, **4-** Belki alırım, **3-** kararsızım **2-** Satın almam, **1-** Kesinlikle satın almam

Çizelge 4.19. Depolama boyunca örneklerin duyusal kantitatif tanımlayıcı analiz (QDA) değerlendirme sonuçlarına ait LSD testi sonuçları[+++]

Örnek	N	Parlaklık	Serum Ayrılması	Sıkılık	Kaşık Girintisi	Pürüzsüzlük	Ekşilik	Tatlılık	Burukluk
Y	21	10,84^{a}	0,00^{b}	9,63^{a}	9,46^{a}	12,05^{a}	7,83^{a}	7,72^{b}	0,19^{a}
YO	21	10,75^{a}	0,02^{b}	9,23^{a}	9,10^{ab}	12,00^{a}	7,81^{a}	8,11^{ab}	0,23^{a}
YOG	21	10,25^{a}	0,05^{ab}	7,98^{b}	8,45^{ab}	11,57^{a}	7,06^{a}	9,05^{a}	0,40^{a}
YOI	21	10,96^{a}	0,00^{b}	8,60^{ab}	8,26^{b}	11,82^{a}	7,34^{a}	8,26^{ab}	0,16^{a}
YOM	21	10,75^{a}	0,19^{a}	8,76^{ab}	8,42^{ab}	11,63^{a}	7,73^{a}	7,64^{b}	0,49^{a}
YOP	21	10,67^{a}	0,05^{ab}	8,92^{ab}	8,42^{ab}	11,31^{a}	7,43^{a}	8,30^{ab}	0,33^{a}
Depolama Süresi (gün)									
5	42	10,18^{a}	0,00^{a}	8,00^{b}	8,69^{ab}	10,70^{b}	7,02^{b}	8,16^{a}	0,28^{a}
15	42	10,96^{a}	0,10^{a}	8,54^{b}	8,00^{b}	11,92^{ab}	7,68^{a}	8,27^{a}	0,29^{a}
25	42	10,97^{a}	0,06^{a}	10,02^{a}	9,36^{a}	12,57^{a}	7,90^{a}	8,12^{a}	0,33^{a}
ANOVA									
Örnek (Ö)	5	ns	*	*	*	ns	ns	*	ns
Depolama Süresi (D)	2	ns	ns	**	**	*	*	ns	ns
Ö x D	10	ns	ns	*	*	ns	ns	ns	ns
Hata	108								

(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

[+++] **QDA Değerlendirme: 0:** En düşük yoğunluk, **7-8:** Orta derecede yoğunluk, **15:** En yüksek yoğunluk

Çizelge 4.20. Depolama boyunca örneklerin duyusal kantitatif tanımlayıcı analiz (QDA) değerlendirme sonuçlarına ait LSD testi sonuçları (Devam) [+++]

Örnek	N	Acılık	Fermente Süt Tadı	Aroma Yoğunluğu	Asetaldehit Aroması	Yabancı tat ve Aroma	Yavanlık
Y	21	0,00^{b}	9,84^{a}	10,29^{a}	9,75^{a}	0,00^{a}	0,11^{b}
YO	21	0,05^{ab}	8,96^{ab}	9,98^{a}	9,03^{ab}	0,05^{a}	0,17^{b}
YOG	21	0,22^{a}	8,50^{b}	9,93^{a}	8,78^{ab}	0,05^{a}	0,29^{ab}
YOI	21	0,00^{b}	8,52^{b}	9,29^{a}	9,02^{ab}	0,05^{a}	0,11^{b}
YOM	21	0,11^{ab}	8,88^{ab}	9,74^{a}	9,30^{ab}	0,05^{a}	0,11^{b}
YOP	21	0,11^{ab}	8,15^{b}	9,24^{a}	8,12^{b}	0,06^{a}	0,72^{a}
Depolama Süresi (gün)							
5	42	0,22^{a}	8,10^{b}	9,29^{b}	8,51^{b}	0,00^{a}	0,75^{a}
15	42	0,00^{b}	8,85^{ab}	9,38^{b}	8,87^{ab}	0,08^{a}	0,00^{b}
25	42	0,02^{b}	9,49^{a}	10,57^{a}	9,62^{a}	0,05^{a}	0,00^{b}
ANOVA							
Örnek (Ö)	5	*	*	ns	*	ns	*
Depolama Süresi (D)	2	**	**	*	*	ns	**
Ö x D	10	*	*	ns	*	ns	*
Hata	108						

(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

[+++] **QDA Değerlendirme: 0:** En düşük yoğunluk, **7-8:** Orta derecede yoğunluk, **15:** En yüksek yoğunluk

Çizelge 4.21. Depolama boyunca örneklerin duyusal kantitatif tanımlayıcı analiz (QDA) değerlendirme sonuçlarına ait LSD testi sonuçları (Devam) [+++]

Örnek	N	Kremamsı yapı	Pütürlü / Taneli yapı	Kumlu yapı	Yapışkanlık	Ağzı kaplama hissi
Y	21	9,89[a]	0,00[a]	0,00[a]	0,11[c]	9,61[a]
YO	21	9,54[a]	0,00[a]	0,00[a]	0,00[c]	10,41[a]
YOG	21	10,15[a]	0,05[a]	0,00[a]	2,44[a]	10,19[a]
YOI	21	10,61[a]	0,00[a]	0,05[a]	0,29[bc]	10,26[a]
YOM	21	10,72[a]	0,00[a]	0,00[a]	0,00[c]	9,36[a]
YOP	21	10,58[a]	0,00[a]	0,00[a]	1,18[b]	9,68[a]
Depolama süresi (gün)						
5	42	9,93[ab]	0,00[a]	0,00[a]	0,36[a]	9,00[b]
15	42	9,69[b]	0,00[a]	0,00[a]	0,65[a]	9,44[b]
25	42	11,12[a]	0,02[a]	0,02[a]	1,00[a]	11,32[a]
ANOVA						
Örnek (Ö)	5	ns	ns	ns	**	ns
Depolama Süresi (D)	2	*	ns	ns	ns	**
Ö x D	10	ns	ns	ns	ns	ns
Hata	108					

(*) p<0,05 düzeyinde önemli, (**) p<0,01 düzeyinde önemli, (ns) önemli değildir. Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

[+++] **QDA Değerlendirme: 0:** En düşük yoğunluk, **7-8:** Orta derecede yoğunluk, **15:** En yüksek yoğunluk

5. SONUÇ

Probiyotik bakteri içeren gıdanın sağlık etkisi gösterebilmesi için, ürünün terapötik seviyede bakteri içermesi ve bu bakterilerin depolama boyunca canlı kalabilmesi kritik öneme sahiptir. Bu sebeple yapılan birçok çalışmada probiyotik bakteri içeren ürünlerin 10^6-10^7 kob/mL seviyesinde probiyotik bakteri ihtiva etmesi gerektiği belirtilmektedir. Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Tebliği'n de ise probiyotik gıdaların en az $1x10^6$ kob/g canlı probiyotik mikroorganizma içermesi gerektiği açıklanmaktadır.

Probiyotik bakterilerin işlendiği süt ürünlerinde fonksiyonel etkinin sağlanabilmesi için bakteri canlılığının korunması teknolojik açıdan bazı zorluklar içermektedir. Bunların başında ise oksidatif stres gelmektedir. Fermente süt ürünlerinin üretimi ve depolama süresi boyunca ürünün maruz kaldığı oksijen anaerobik yapıdaki probiyotik bakteriler için toksik etki oluşturmakta ve canlı bakteri sayısında azalma meydana gelmektedir. Bu sebeple probiyotik bakteri ilave edilen fermente süt ürünlerinde oksidatif inaktivasyonu azaltmak için kullanılan yeni tekniklerden biri de ürüne glikoz oksidaz enziminin ilavesidir. FDA tarafından GRAS olarak kabul edilen glikoz oksidaz enzimi, monosakkaritlerin yapısındaki β-D-glikozu katalize ederken, aynı zamanda ortamdaki oksijeni de tüketerek anaerobik yapıdaki probiyotik bakterilerin gelişimine etki sağlamaktadır.

Glikoz oksidaz enziminin anaerobik probiyotik bakteri gelişmini desteklemesi amacıyla yapılan çalışmalarda milimolar seviyede enzim varlığının antioksidatif etki için yeterli olduğu, fazla kullanılan enzimin ise ortamda subsrat yetersizliği veya hidrojen peroksit birikmesi sonucu bakteri gelişimine etkisiz olabileceği veya toksik etki yaratabileceği belirtilmektedir.

Bu çalışmada, glikoz oksidaz enzimi ile birlikte farklı prebiyotik karbonhidrat kaynaklarının süt fermantasyonuna etkisi ve oluşan son ürün üzerindeki fonksiyonel ve teknolojik değişmeler incelenmiştir. Starter kültür olarak *S. thermophilus, L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus, L. acidophilus* ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterileri kullanılmıştır. Örneklere %0,005 glikoz oksidaz enzimi ile birlikte %1 oranında glikoz, inülin,

maltodekstrin ve polidekstroz ilave edilerek mikrobiyal, fizikokimyasal, tekstürel ve duyusal özelliklerindeki değişim incelenmiştir.

Fermantasyon sonrasında genel olarak glikoz oksidaz enzimi ve karbonhidrat kaynaklarının varlığı gelişme oranını olumlu yönde etkilemiştir. Glikoz oksidaz enzimi ve prebiyotik substrat ilavesi yapılmayan kontrol Y örneğinde diğer örneklere göre depolama süresi boyunca daha yüksek bakteriyel gelişim olduğu sonucuna varılmıştır. Glikoz oksidaz enzimi, inülin ve maltodekstrin varlığında *L. acidophilus* ve *B. animalis* subsp. *lactis* aktivitesini stimüle etmiştir. Glikoz varlığı da kompleks olmayan bu sistemde bakterilerin gelişimi için kolay ulaşılabilir bir substrat kaynağı olarak canlılığı desteklemiştir. *B. animalis* subsp. *lactis* karbonhidrat kaynağı eklenmeyen matrikste dahi enzim varlığında süt şekeri laktozu metabolize ederek yüksek gelişme yeteneği göstermiştir. Polidekstroz içeren örneklerde yalnızca *S. thermophilus* sayısı yüksek tespit edilmiş, diğer bakterilerin sayısı bu yoğurtlarda terapötik seviyenin altında saptanmıştır.

Örneklerin post-asidifikasyonu incelendiğinde, titrasyon asitliği ve pH değerleri beklenildiği gibi bakteriyel gelişimin daha yüksek olduğu örnekler ile paralel sonuçlar göstermiştir. Laktik asit oluşumu ve etkin karbonhidrat fermantasyonundan dolayı bu örneklerde toplam asitlik gelişimi ile jelleşme ve pıhtı oluşumu desteklenmiştir. Yoğurtlarda beklenen şekilde gelişen laktik asit fermantasyonu ve inkübasyon sonu (F2) yüksek bakteri sayısı sıkı bir pıhtı özelliği ile serum ayrılması ve su tutma kapsitesinde belirgin farklılıklar yaratmamıştır.

Literatürlerde prebiyotik karbonhidrat kaynaklarının fermantasyona etkisi ile süt ürünlerinde tekstür iyileştirici özellikler gösterdiği birçok araştırma bulunmaktadır. Bu çalışmada prebiyotik kaynaklarının ilave edildiği örneklerde misel yapısının güçlenmesi sonucu örneklerin sıkılık, iç yapışkanlık, konsistens ve viskozite indeksi gibi tekstürel özelliklerinin korunduğu ancak, kontrol örneğinde yüksek bakteri gelişimi ile birlikte daha sıkı bir yapının geliştiği sonucuna varılmıştır.

Yoğurt bakterileri laktozu fermente ederek fermantasyon sonucunda, organik asit ve uçucu/uçucu olmayan aroma bileşenlerini oluşturmaktadır. *L. acidophilus* türleri glikozdan daha çok laktik asit üreten homofermentatif bakteriler iken, heterofermentatif olan *B. animalis* subsp. *lactis* ise glikozu laktik asit, asetik asit ve diğer uçucu bileşiklere dönüştürmektedir. Probiyotik yoğurtlarda yüksek laktik asit miktarı yalnızca glikoz oksidaz enzimi içeren YO ve inülin içeren YOI örneğinde, daha yüksek asetik asit miktarları ise polidekstroz ilaveli YOP ve yine YOI örneklerinde belirlenmiştir.

Prebiyotik karbonhidrat içermeyen Y ve YO örneklerinin daha yüksek diasetil, yine yalnızca glikoz oksidaz içeren YO ve inülin katkılı YOI örneklerinin diğer yoğurtlara göre asetaldehit aroma bileşenlerini daha fazla içerdiği tespit edilmiştir. Glikoz oksidaz enzimi-karbonhidratlar-proteinler arasındaki etkileşim ile bakterilerin fermantasyon boyunca karbonhidrat kaynağını farklı mekanizmalar ile kullanmasına bağlı olarak değişen oranlarda organik asitler ve aroma bileşenleri oluşmuştur.

Örneklerin duyusal değerlendirilmesinde Y, YO, YOI, YOM ve YOP örneklerinin satın alma niyeti ve genel kabul edilebilirlikleri arasında önemli bir farklılık tespit edilmezken, YOG örneği panelistler tarafından en az beğenilen ve tercih edilebilirliği daha düşük olarak saptanmıştır. Genel olarak, hedonik ve QDA duyusal özelliklerinde örnekler arası ve depolama boyunca belirgin değişimler tespit edilmemiştir. Polidekstroz içeren YOP örneğinde fermente süt tadı ve asetaldehit aroması bakteriyel gelişme ile orantılı olarak daha düşük tanımlanmıştır. Duyusal değerlendirme parametreleri genel olarak >8 çok beğendim ve satın alırım şeklinde belirtilmiştir.

Yapılan çalışma sonucunda glikoz oksidaz enziminin, subsrat yetersizliği ve ortamda hidrojen peroksit birikmesi sonucu anaerobik probiyotik bakteri gelişimine istenilen düzeyde katkı sağlayamadığı sonucuna varılmıştır. Bakteri gelişiminin aktivasyonu için enzim-prebiyotik/prebiyotik olmayan karbonhidrat interaksiyonunun suş bazında *in vitro* ortam ve farklı bileşimdeki süt matrikslerinde fermantasyon kinetiklerinin derinlemesine incelenmesi ile çalışılması gerekmektedir.

Fonksiyonel süt ürünleri tüketiminin giderek hız kazandığı gıda sektöründe probiyotik bakteri içeren gıdaların yeri yadsınamayacak kadar önemlidir. Probiyotik bakteri içeren gıdalardan fonksiyonel faydanın sağlanabilmesi ve gıdanın raf ömrü süresince elde edilen bu terapötik etkinin devamlılığı probiyotik/fonksiyonel gıda üreticileri için önemli bir konu olmaya devam etmektedir. Glikoz oksidaz enziminin probiyotik fermente süt ürünlerinde kullanımı istenilen fonksiyonel etkinin sağlanabilmesi ve sürdürülmesi açısından geleceğe dönük alternatif bir çözüm olarak görülmektedir.

Yapılan birçok çalışma glikoz oksidaz enziminin fermente süt ürünlerinde kullanımının oksidatif stresi azaltması sonucu bakteriyel gelişimi desteklediği yönündedir. Aynı zamanda literatürde enzim-karbonhidrat interaksiyonunun, enzimin verimli çalışmasını etkiyelen unsurlardan biri olduğunu vurgulayan çalışmalar bulunmaktadır. Fermente sütlere ilave edilecek glikoz oksidaz enzim miktarı, prebiyotik karbonhidratın çeşidi/oranı ile bakteri türü ve fermantasyon metabolizmasının gelişme kinetiklerini ve oluşan metabolitleri doğrudan etkilediği saptanmıştır.

Yapılan bu çalışma sonucunda, oksidatif strese karşı bakteri aktivitesi ve canlılığını destekleyebilecek enzim ve karbonhidrat miktarlarının farklı probiyotik bakteri ve simbiyotik matrikslerde çalışılması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Çalışmada ileriye dönük olarak, glikoz oksidaz ve prebiyotik kaynaklarının *in vitro* ve probiyotik süt fermantasyonunda incelenmesinin, bakteri enzim sistemleri, fermantasyon kinetikleri ve metabolomik dönüşümler konusunda yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abed, S. M., Ali, A. H., Noman, A., Niazi, S., Ammar, A. F., & Bakry, A. M. (2016). Inulin as prebiotics and its applications in food industry and human health; a review. *International Journal of Agriculture Innovations & Research, 5*(1), 88-97.

Ahmadi, E., Mortazavian, A. M., Fazeli, M. R., Ezzatpanah, H., & Mohammadi, R. (2012). The effects of inoculant variables on the physicochemical and organoleptic properties of Doogh. *International Journal of Dairy Technology, 65*(2), 274-281.

Aktas, A. H., Sen, S., Yılmazer, M., & Cubuk, E. (2005). Determination of carboxylic acids in apple juice by RP HPLC. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering-International English Edition, 24(*1), 1-6.

Altınkaynak, H. Ş., & Özcan, T. (2021). Glikoz oksidaz enzimi mekanizması ve süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin gelişimi üzerine etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi, (26), 1*-9.

Agil, R., & Hosseinian, F. (2012). Dual functionality of triticale as a novel dietary source of prebiotics with antioxidant activity in fermented dairy products. *Plant Foods For Human Nutrition, 67*(1), 88-93.

Akdeniz, V., & Akalın, A. S. (2017). Ultrason uygulamasının süt ürünlerinde homojenizasyon, jel yapısı, viskozite ve su tutma kapasitesi üzerine etkisi. *Gıda*, *42*(6), 743-753.

Akin, M. B., & Dasnik, F. (2015). Effects of ascorbic acid and glucose oxidase levels on the viability of probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in symbiotic ice-cream. *Mljekarstvo, 65*(2), 121-129.

Ali, A., Kemal, M., Rahman, H., Siddiqui, N., Haque, A. Saha, K. K., & Rahman, H. (2022). Functional dairy products as a source of bioactive peptides and probiotics: Current trends and future prospectives. *Journal of Food Science & Technology, 59*(4), 1263-1279.

Allgeyer, L. C., Miller, M. J., & Lee, S. Y. (2010). Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. *Journal of Dairy Science*, *93*(10), 4471-4479.

Aloisio, I., Santini, C., Biavati, B., Dinelli, G., Cencič, A., Chingwaru, W., & Di Gioia, D. (2012). Characterization of *Bifidobacterium* spp. strains for the treatment of enteric disorders in newborns. *Applied Microbiology & Biotechnology*, *9(*6), 1561-1576.

Amaretti, A., Nunzio, M., Pompei, A., Raimondi, S., Rossi, M., & Bordoni, A. (2013). *Applied Microbiology & Biotechnology, 97*, 809-817.

AOAC. (2012). Official methods of analysis. 19th Association of Official Analytical of Chemists, Arlington, VA.

Barat, A., & Ozcan, T. (2018). Growth of probiotic bacteria and characteristics of fermented milk containing fruit matrices. *International Journal of Dairy Technology, 71*(3), 120-129.

Beerens, H., Gavini, F., & Neut C. (2000). Effect of exposure to air on 84 strains of Bifidobacteria. *Anaerobe,* 6, 65-67.

Beristain, C. I., Cruz-Sosa, F., Lobato-Calleros, C., Pedroza-Islas, R., Rodríguez-Huezo, M. E., & Verde-Calvo, J. R. (2006). Applications of soluble dietary fibers in beverages. *Revista Mexicana de Ingenieria Quimica*, *5*(1), 81-95.

Bisar, G. H., El-Saadany, K., Khattab, A., & El-Kholy, W. M. (2015). Implementing maltodextrin, polydextrose and inulin in making a synbiotic fermented dairy product. *British Microbiology Research Journal*, *8*(5), 585-603.

Blaak, E. E., Canfora, E. E., Theis, S., Frost, G., Groen, A. K., Mithieux, G., et al. & Verbeke, K. (2020). Short chain fatty acids in human gut and metabolic health. *Beneficial Microbes*, *11*(5), 411-455.

Bot, A., Erle, U., Vreeker, R., & Agterof, W. G. (2004). Influence of crystallisation conditions on the large deformation rheology of inulin gels. *Food Hydrocolloids*, *18*(4), 547-556.

Burdock, G. A., Carabin, I. G., & Griffiths, J. C. (2006). The importance of GRAS to the functional food and nutraceutical industries. *Toxicology*, *221*(1), 17-27.

Canbulat, Z., & Ozcan, T. (2015). Effects of short-chain and long-chain inulin on the quality of probiotic yogurt containing *Lactobacillus rhamnosus*. *Journal of Food Processing & Preservation*, *39*(6), 1251-1260.

Castellari, M., Matricardi, L., Arfelli, G., Carpi, G., & Galassi, S. (2000). Effects of high hydrostatic pressure processing and of glucose oxidase-catalase addition on the color stability and sensorial score of grape juice. *Food Science & Technology International*, *6*(1), 17-23.

Champagne, C. P., Cruz, A. G., & Daga, M. (2018). Strategies to improve the functionality of probiotics in supplements and foods. *Current Opinion in Food Science*, *22*, 160-166.

Chen, Y., She, Y., Zhang, R., Wang, J., Zhang, X., & Gou, X. (2020). Use of starch-based fat replacers in foods as a strategy to reduce dietary intake of fat and risk of metabolic diseases. *Food Science & Nutrition*, *8*(1), 16-22.

Chukwu, E. E., Nwaokorie, F. O., & Coker, A. O. (2014). Role of anaerobes as probiotic organisms. *International Journal of Food Nutrition & Safety*, *5*(2), 74-97.

Cruz, A. G., Castro, W. F., Faria, J. D. A. F., Bolini, H. M. A., Celeghini, R. M. D. S., Raices, R. S. L., Oliveira, C. A. F., Freitas, M. Q., Conte Júnior, C. A., & Márs ico, E. T. (2013). Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage. *Food Research International*, *51*(2), 723-728.

Cruz, A. G., Cadena, R. S., Faria, J. A., Bolini, H. M.A., Dantas, C., Ferreira, M. M., & Deliza, R. (2012c). PARAFAC: Adjustment for modeling consumer study covering probiotic and conventional yogurt. *Food Research International*, *45*(1), 211-215.

Cruz, A. G., Castro, W. F., Faria, J. D. A. F., Lollo, P. C. B., Amaya-Farfán, J., Freitas, M. Q., & Godoy, H. T. (2012b). Probiotic yogurts manufactured with increased glucose oxidase levels: Postacidification, proteolytic patterns, survival of probiotic microorganisms, production of organic acid and aroma compounds. *Journal of Dairy Science*, *95*(5), 2261-2269.

Cruz, A. G., Castro, W. F., Faria, J. A., Bogusz Jr, S., Granato, D., Celeguini, R. M., ... & Godoy, H. T. (2012a). Glucose oxidase: A potential option to decrease the oxidative stress in stirred probiotic yogurt. *LWT*, *47*(2), 512-515.

Cruz, A. G., Faria, J. A. F., Walter, E. H. M., Andrade, R. R., Cavalcanti, R. N., Oliveira, C. A. F. D., & Granato, D. (2010). Processing optimization of probiotic yogurt containing glucose oxidase using response surface methodology. *Journal of Dairy Science*, *93*(11), 5059-5068.

Cruz, A. G., de AF Faria, J., & Van Dender, A. G. (2007). Packaging system and probiotic dairy foods. *Food Research International*, *40*(8), 951-956.

Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J., Berenjian A., & Ghasemi, Y. (2019). Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Food*, *8*(3), 92.

Dave, R.I., & Shah N.P. (1997). Effectiveness of ascorbic acid as an oxygen scavenger in improving viability of probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, *7*(6-7), 435-43.

Delikanli, B., Ozcan, T. (2014). Effects of various whey proteins on the physicochemical and textural properties of set type nonfat yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, *67*(4), 495-503.

Do Carmo, M.M.R., Walker, J.C.L., Novello, D., Caselato, V.M., Sgarbieri, V.C., Ouwehand, A.C., Andreollo, N.A., Hiane, P.A. & Dos Santos, E.F. (2016). Polydextrose: Physiological function and effects on health. *Nutrients*, *8*, 553.

Donkor, O. N., Nilmini, S. L. I., Stolic, P., Vasiljevic, T. & Shah N. P. (2007). Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, *17*, 657-665.

El-Komaily, R. M., Elbatawy, O., & Aumara, I. (2022). Impact of Maltodextrin and Inulin on Synbiotic Fermented Milk Production. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, *30*(1), 107-116.

Essa, M. M., Bishir, M., Bhat, A., Chidambaram, S. B., Al-Balushi, B., Hamdan, H., & Qoronfleh, M. W. (2023). Functional foods and their impact on health. *Journal of Food Science & Technology*, 1-15.

FAO/WHO. (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Fazio, A., La Torre, C., Caroleo, M. C., Caputo, P., Cannataro, R., Plastina, P., & Cione, E. (2020). Effect of addition of pectins from jujubes (*Ziziphus jujuba* Mill.) on vitamin C production during heterolactic fermentation. *Molecules*, *25*(11), 2706.

Figueroa-González, I., G. Quijano, G. Ramírez, & A. Cruz-Guerrero. (2011). Probiotics and prebiotics-Perspectives and challenges. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, *91*(8), 1341-1348.

Franck, A. (2002). Technological functionality of inulin and oligofructose. *British journal of Nutrition*, *87*(2), 287-291.

Fuangpaiboon, N., & Kijroongrojana, K. (2017). Sensorial and physical properties of coconut-milk ice cream modified with fat replacers. *Maejo International Journal of Science & Technology*, *11*(2), 133–147.

Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, *66*(5), 365-378.

Gałkowska, D., Południak, M., Witczak, M., & Juszczak, L. (2020). Effect of prebiotic polysaccharides on the rheological properties of reduced sugar potato starch based desserts. *Polymers*, *12*(10), 2224.

Gibson, G. R., Roberfroid, M. B. (2008). Handbook of Prebiotics. Boca Raton, Florida: CRC Press.

Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, *125*(6), 1401-1412.

Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterol & Hepatology*, *14*(8), 491-502.

Giraffa, G. (2012). Selection and design of lactic acid bacteria probiotic cultures. *Engineering in Life Sciences*, *12*(4), 391-398.

Goodsell DS (2006). Glucose oxidase. Molecule of the month, PCSB Protein Data Bank.

Gophna, U., Sommerfeld K., Gophna S., Doolittle WF., & Veldhuyzen van Zanten SJ. (2006). Differences between tissueassociated intestinal microfloras of patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Journal of Clinical Microbiology*, *44*(11), 4136-4141.

Granato, D., Branco, G. F., Cruz, A. G., Faria, J. D. A. F., & Shah, N. P. (2010). Probiotic dairy products as functional foods. *Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety*, *9*(5), 455-470.

Güzel-Seydim, Z. B., Seydim, A. C., Greene, A. K., & Bodine, A. B. (2000). Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. *Journal of Food composition and Analysis*, *13*(1), 35-43.

Hadnadev, M., Hadnadev, T., Dokic, L., Pajin, B., Torbica, A., Saric, L., & Ikonic, P. (2014). Physical and sensory aspects of maltodextrin gel addition used as fat replacers in confectionery filling systems. *Food Science & Technology, 59*, 495-503.

Hasler C. M. (2002). Functional foods: benefits, concerns and challenges-a position paper from the american council on science and health. *The Journal of Nutrition, 132 (12),* 3772-3781.

Hengst, C, Ptok, S., Roessler, A,, Fechner, A., & Jahreis, G. (2009). Effect of polydextrose supplementation on different faecal parameters in healthy volunteers. *International Journal of Food Sciences & Nutrition*, *60*(5), 96-105.

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., & Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & hepatology, 11,* 506-514.

Hofman, D. L., Van Buul, V. J., & Brouns, F. J. (2016). Nutrition, health, and regulatory aspects of digestible maltodextrins. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, *56*(12), 2091-2100.

Hoque, M.Z, Akter, F., Hossain, K.M., Rahman, M.S.M., Billah, M.M., & Islam, K.M.D. (2010). Isolation, ıdentification and analysis of Probiotic Properties of Lactobacillus Spp. From Selective Regional Yogurts. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, *5*(1), 39-46.

Izadi, Z., Nasirpour, A., Garoosi, G.A., Tamjidi, F. (2015). Rheological and physical properties of yogurt enriched with phytosterol during storage. *Journal of Food Science and Technology, 52*(8), 5341-5346.

İçli, N. (2008). *İmmobilize Glukoz Oksidaz Enziminin Özellikleri ve Enzim Aktifliğinin Artırılması* [Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi]. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Jie, Z, Bang-Yao L, Ming-Jie X, Hai-wei L, Zu-kang Z, Ting-song W, Craig SAS (2000). Studies on the effects of polydextrose intake on physiologic functions in chinese people. *The American Journal of Clinical Nutrition, 72*, 1503-1509.

Kailasapathy, K., & Chin J. (2000). Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunology & Cell Biology*, *78*(1), 80-8.

Karaman, S., & Ozcan, T. (2021). Determination of gelation properties and biotherapeutic potential of black carrot fibre-enriched functional yoghurt produced using pectin and gum arabic as prebiotic. *International Journal of Dairy Technology, 74*(3), 505-517.

Kip, P, Meyer D, Jellema RH. (2006). Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. *International Journal*. *16,*1098-1103.

Kirjavainen, P.V., Apostolou, A., Arvola, T., Salminen, S.J., Gibson, G.R., & Isolauri, E. (2001). Characterizing the composition of intestinal microflora as a prospective treatment target in infant allergic disease. *FEMS Immunology & Medical Microbiology, 32*(1), 1-7.

Kirk, O., Borchert T.V., & Fuglsang C.C. (2002). Industrial enzyme applications. *Currut Opinion in Biotechnology*, *13*, 345-351.

Konar, N., Özhan, B., Artık, N., & Poyrazoglu, E. S. (2014). Using polydextrose as a prebiotic substance in milk chocolate: effects of process parameters on physical and rheological properties. *CyTA-Journal of Food, 12*(2), 150-159.

Kornecki, J. F., Carballares, D., Tardioli, P. W., Rodrigues, R. C., Berenguer-Murcia, Á., Alcantara, A. R., & Fernandez-Lafuente, R. (2020). Enzyme production of D-gluconic acid and glucose oxidase: successful tales of cascade reactions. *Catalysis Science & Technology*, *10*(17), 5740-5771.

Köse, Ş. & Ocak, E. (2014). Yoğurtta lezzet bileşenlerinin oluşumu ve bu oluşum üzerine etki eden faktörler. *Akademik Gıda, 12*(2), 101-107.

Kullisaar, T., Songisepp, E., & Zilmer, M. (2012). Probiotics and oxidative stress. Lushchak, V. (Ed.), *Oxidative Stress-Environmental Induction & Dietary Antioxidants*, 203-222.

Lankaputhra, W. E. V., Shah, N. P., & Britz, M. L. (1996). Survival of bifidobacteria during refrigerated storage in the presence of acid and hydrogen peroxide. *Milchwissenschaft*, 51, 65-69.

Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahid, A., Ashraf, W., Iqbal, M. W., & Korma, S. A. (2023). Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1-14.

Lee, W. J., & Lucey, J. A. (2004). Structure and physical properties of yogurt gels: Effect of inoculation rate and incubation temperature. *Journal of Dairy Science*, *87*(10), 3153-3164.

Leskovac, V., Trivić, S., Wohlfahrt, G., Kandrač, J., & Peričin. D. (2005). Glucose oxidase from *Aspergillus niger*: The mechanism of action with molecular oxygen, quinones, and one-electron acceptors. *The International Journey of Biochemistry & Cell Biol*ogy, *37*, 731-750.

Lilly, D.M., & Stillwell, R.H. (1965). Probiotics: Growth-promoting factors produced by micro-organisms. *Science, 147*(3659), 747-748.

Malagón-Rojas, J. N., Mantziari, A., Salminen, S., & Szajewska, H. (2020). Postbiotics for preventing and treating common infectious diseases in children: A systematic review. *Nutrients, 12*(2), 389.

Martirosyan D. M., Lampert T., & Ekblad M. (2022). Classification and regulation of functional food proposed by the functional food center. *Functional Food Science 2*(2), 25-46.

Masco, L., Huys, G., De Brandt, E., Yemmerman, R., & Swings, J. (2005). Culture-dependent and cultureindependent qualitative analysis of probiotic products claimed to contain bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology, 102*, 221-230.

Mattila-Sandholm, T., Myllarinen, P. M., Crittenden, R., Mogensen, G., Fonden, R., & Saarela, M. (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal, 12,* 173-182.

Mellentin, J., & Heasman, M. (2014). *The functional foods revolution: Healthy people, healthy profits.* Routledge.

Meyer, D., Bayarri, S., Tárrega, A., & Costell, E. (2011). Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, *25*(8), 1881-1890.

Milci, S., & Yaygın, H. (2005). Laktik asit bakterileri tarafından üretilen ekzopolisakkaritler ve süt ürünlerindeki fonksiyonları. *Gıda*, *30*(2), 123-129.

Miller, C.W., Nguyen M.H., Rooney M., & Kailasapathy K. (2002). The influence of packing materials on the dissolved oxygen content of probiotic yoghurt. *Packaging Technology & Science, 15*, 133-8.

Miller, C.W., Nguyen M.H., Rooney M., & Kailasapathy K. (2003). The control of dissolved oxygen content in probiotic yoghurts by alternative packaging materials. *Packaging Technology & Science, 16*, 61-7.

Mogensen, G. (2002). *Inventory of microorganisms with a documented history of use in foods*. *Bulletin of the International Dairy Federation, 377*, 1-10.

Muelas, R., de Olives, A. M., Romero, G., Díaz, J. R., Sayas-Barberá, M. E., & Sendra, E. (2018). Evaluation of individual lactic acid bacteria for the fermentation of goat milk: Quality parameters. *LWT-Food Science and Technology, 98*, 506-514.

Muller, D (1928). Oxidation von Glukose mit Extrakten aus *Aspegillus niger*. *Biochem. z, 199*, 136-170.

Murphy, O. (2001). Non-polyol low-digestible carbohydrates: Food applications and functional benefits. *British Journal of Nutrition, 85*(1), 47-53.

O'Connell, T. M. (2020). The application of metabolomics to probiotic and prebiotic interventions in human clinical studies. *Metabolites*, *10*(3), 120.

Ozcan, T. (2013). Determination of yogurt quality by using rheological and textural parameters. *Food Science & Nutrition, 53*, 118-122.

Ozcan, T., Ozdemir, T., & Avci, H. R. (2021). Survival of *Lactobacillus casei* and functional characteristics of reduced sugar red beetroot yoghurt with natural sugar substitutes. *International Journal of Dairy Technology, 74*(1), 148-160.

Ozcan, T., & Eroglu, E. (2022). Effect of stevia and inulin interactions on fermentation profile and short-chain fatty acid production of *Lactobacillus acidophilus* in milk and in vitro systems. *International Journal of Dairy Technology*, *75*(1), 171-181.

Ozcan, T., & Eroglu, E. (2023). In vitro fermentation assay on the bifidogenic effect of steviol glycosides of *Stevia rebaudiana* plant for the development of dietetic novel products. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 29, 1-10.

Ozdemir, T., & Ozcan, T. (2020). Effect of steviol glycosides as sugar substitute on the probiotic fermentation in milk gels enriched with red beetroot (*Beta vulgaris L.*) bioactive compounds. *Lwt Food Science & Technology*, *134*, 109851.

O'Toole, P. W., Marchesi, J. R., & Hill, C. (2017). Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics. *Nature Microbiology*, 2(5), 1-6.

Özcan, T., & Yıldız, E. (2016). Sebze püresi ile üretilen yoğurtların tekstürel ve duyusal özelliklerinin belirlenmesi. *Türk Tarım-Gıda Bilim & Teknoloji Dergisi*, *4*(7), 579-587.

Özyurt, V. H., & Ötleş, S. (2014). Prebiyotikler: Metabolizma için önemli bir gıda bileşeni. *Akademik Gıda*, *12*(1), 115-123.

Parker, R. (1974). Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Animal Nutrition & Health, 29*, 4-8.

Parpinello G., Chinnici F., Versari A., & Riponi C., (2002). Preliminary study on glucose oxidase-catalase enzyme system to control the browning of apple and pear purées. *Lebensm-Wiss Technology, 35,* 239-243.

Paseephol, T., Small, D. M., & Sherkat, F. (2008). Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition. *Journal of Texture Studies*, *39*(6), 617-634.

Patel, P. J., Singh, S. K., Panaich, S., & Cardozo, L. (2014). The aging gut and the role of prebiotics, probiotics, and synbiotics: A review. *Journal of Clinical Gerontology & Geriatrics, 5*, 3-6.

Peuranen, S., Tiihonen, K., Apajalahti, J., Kettunen, A., Saarinen, M., & Rautonen, N. (2004). Combination of polydextrose and lactitol affects microbial ecosystem and immune responses in rat gastrointestinal tract. *British Journal of Nutrition*, *91*(6), 905-914.

Pujari, R., & Banerjee, G. (2021). Impact of prebiotics on immune response: From the bench to the clinic. *Immunology & Cell Biology, 99*(3), 255-273.

Raju, P. N., & 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 & Technology*, *44*(9), 1835-1843.

Ramachandran, S., Fontanille, P., Pandey, A., & Larroche, C., (2006). Gluconic Acid: Properties, Applications and Microbial Production, *Food Technology & Biotechnology, 44*(2), 185-195.

Ray, B. (2004). Fundamental Food Microbiology. 3rd edition. CRC Press. LLC, 2000 N.W corporate Blvd. Boca Raton, Florida.

Reid, G. (2015). The growth potential for dairy probiotics. International Dairy Journal, 49, 16-22.

Remeuf, F., Mohammed, S., Sodini, I., & Tissier, J. P. (2003). Preliminary observations on the effects of milk fortification and heating on microstructure and physical properties of stirred yogurt. *International Dairy Journal, 13*(9), 773-782.

Rosa, M. C., Carmo, M. R., Balthazar, C. F., Guimarães, J. T., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., & Cruz, A. G. (2021). Dairy products with prebiotics: An overview of the health benefits, technological and sensory properties. *International Dairy Journal, 117*, 105009.

Roy, D. (2005). Technological aspects related to the use of bifidobacteria in dairy products. *Lait, 85,* 39-56.

Ruiz, L., Gueimonde, M., Ruas-Madiedo, P., Ribbera, A., de Los Reyes-Gavilán, C. G., Ventura, M., & Sánchez, B. (2012). Molecular clues to understand the aerotolerance phenotype of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*(3), 644-650.

Shaha, B. R., Lib, B., Sabbahc, H.A., Xud,W., & Mraza, J. (2020). Effects of prebiotic dietary fibers and probiotics on human health: With special focus on recent advancement in their encapsulated formulations. *Trends in Food Science & Technology*, *102*,178-192.

Salvador, A., & Fiszman, S. M. (2004). Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavored set-type yogurt during long storage. *Journal of Dairy Science, 87*(12), 4033-4041.

Sánchez, B., de los Reyes-Gavilán C. G., Margolles A., & Gueimonde M. (2009). Probiotic fermented milks: present and future. *International Journal of Food Microbiolology, 62*, 472-483.

Sanders, M. E., & Marco, M. L. (2010). Food formats for effective delivery of probiotics. *Annual Review of Food Science & Technology, 1*, 65-85.

Santos,D. X., Bedania,R., Limad, E. D., & Saada, S. M. (2020). Impact of probiotics and prebiotics targeting metabolic syndrome. *Journal of Functional Foods 64*, 103666.

Schaller-Povolny, L. A., & Smith, D. E. (2001). Original papers-Viscosity and freezing point of a reduced fat ice cream mix as related to inulin content. *Milchwissenschaft, 56*(1), 25-28.

Serin, S., & Sayar, S. (2016). The effect of the replacement of fat with carbohydrate-based fat replacers on the dough properties and quality of the baked pogaca: a traditional high-fat bakery product. *Food Science & Technology, 37*, 25-32.

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

Sharma, A. K., Agarwal, V., Kumar, R., Chaurasia, H., Chaurasia, D., & Bhardwaj, P. (2011). Prebiotics: A review of therapeutic potential. *International Journal of Pharmaceutical Innovations, 1*(3), 28-40.

Sharma, S., Singh, A., Sharma, S., Kant, A., Sevda, S., Taherzadeh, M. J., & Garlapati, V. K. (2021). Functional foods as a formulation ingredients in beverages: Technological advancements and constraints. *Bioengineered, 12*(2), 11055-11075.

Shimamura, S., Abe F., Ishibashi N., Miyakawa H., Yaeshima T.A., & Tomita M. (1992). Relationship between oxygen sensitivity and oxygen metabolism of Bifidobacterium species. *Journal of Dairy Science, 75*(12), 3296-306.

Silva, M. M., Reboredo, F. H., & Lidon, F. C. (2022). Food colour additives: A synoptical overview on their chemical properties, applications in food products, and health side effects. *Foods, 11*(3), 379.

Simpson, P.J., Ross R.P., Fitzgerald G.F., & Stanton C., (2004). *Bifidobacterium psychraerophilum* sp. nov. and *Aeriscardovia aeriphila* gen. nov., sp. nov., isolated from a porcine caecum. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*. 54(2), 401-406.

Sims, I. M., Ryan, J. L., & Kim, S. H. (2014). Inávitro fermentation of prebiotic oligosaccharides by *Bifidobacterium lactis HN019* and *Lactobacillus* spp. *Anaerobe, 25*, 11-17.

Snydman, D.R. (2008). The safety of probiotics. *Clinical Infectious Diseases, 46*(2), 104-111.

Sokol, H., Pigneur, B., Watterlot, L., Lakhdari, O., Bermúdez-Humarán, L. G., Gratadoux, J. J., & Langella, P. (2008). Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 105*(43), 16731-16736.

Srisuvor N, Chinprahast N, Prakitchaiwattana C, 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 & Technology., 51*, 30-36.

Şimşek, İ., & Bilgili, A. (2014). Prebiyotikler, sinbiyotikler ve veteriner hekimliğinde kullanımı. *Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi, 14*(3-4), 97-110.

Talwalkar, A., Kailasapathy K., Peiris P., & Arumugaswamy R. (2001). Application of RBGR-a simple way for screening of oxygen tolerance in probiotic bacteria. *International Journal of Food Microbiol, 71*(2-3), 245.

Talwalkar, A., & Kailasapathy, K. (2003). Metabolic and biochemical responses of probiotic bacteria to oxygen. *Journal of Dairy Science, 86*(8), 2537-2546.

Talwalkar, A, Miller C.W., Kailasapathy K., & Nguyen M.H. (2004a). Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. *International Journal of Food Science & Technology, 39,* 605-11.

Talwalkar, A., & Kailasapathy, K. (2004b). A review of oxygen toxicity in probiotic yogurts: Influence on the survival of probiotic bacteria and protective techniques. *Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety, 3*(3), 117-124.

Tannock, G. W., Munro K., Harmsen H. J. M., Welling G. W., Smart J., & Gopal P.K. (2000). Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a probiotic product containing *Lactobacillus rhamnosus DR 20*. *Applied and Environmental Microbiology, 66,* 2578-88.

Tavşanlı, H., & Gökmen, M. (2020). Balıkesir ilinde semt pazarlarında satışa sunulan yoğurtların fiziko-kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, *22*(1), 318-326.

Terpou, A., Bekatorou, A., Kanellaki, M., Koutinas, A. A., & Nigam, P. (2017). Enhanced probiotic viability and aromatic profile of yogurts produced using wheat bran (*Triticum aestivum*) as cell immobilization carrier. *Process Biochemistry*, 55, 1-10.

TS 13359. (2008). *Bal Fruktoz, Glukoz, Sakaroz, Turanoz ve Maltoz Muhtevası Tayini-Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Metodu*, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Usta, B., Yılmaz-Ersan, L., & Özcan, T. (2015). Prebiyotik etkinin değerlendirilmesinde nicel yaklaşımlar. *2. İç Anadolu Bölgesi Tarım & Gıda Kongresi*, Nevşehir.

Veena, N., Nath, S., & Arora, S. (2016). Polydextrose as a functional ingredient and its food applications: A review. *Indian Journal of Dairy Science, 69*(3), 239-251.

Vianna, F. S., Canto, A. C. V. C. S., Costa-lima, B. R. C., Paula, A., Salim, A. A., Costa, M. P., Balthazar, C. F., Oliveira, B. R., Rachid, R. P., Franco, R. M., Conte-junior, C. A., & Silva, A. C. O. (2017). Development of new probiotic yoghurt with a mixture of cow and sheep milk : Effects on physicochemical, textural and sensory analysis. *Small Ruminant Research, 149*, 154-162.

von Ah U, et al. 2007. Classification of a moderately oxygen-tolerant isolate from baby faeces as *Bifidobacterium thermophilum*. BMC Microbiology, 7, 79.

Wilson, R., & Turner A.P.F. (1992). Glucose oxidase: An ideal enzyme. *Biosens Bioelectron, 7,* 165-185.

Wong, C. M., Wong, K. H., & Chen, X. D. (2008). Glucose oxidase: Natural occurrence, function, properties and industrial applications. *Applied Microbiology & Biotechnology*, *78*, 927-938.

Xie S. H, Liu Q. & Cui S.W. (2005). Starch modifications and applications. In Cui SW, (Ed.), Food carbohydrates: Chemistry, physical properties and applications. USA. Taylor & Francis. 332-341.

Xu, D., Li, L., Tang, X., Chen, J., Yan, W., Wang, L., & Yao, H. (2022). Potential prebiotic functions of a characterised *Ehretia macrophylla* Wall. fruit polysaccharide. *International Journal of Food Science & Technology*, *57*(1), 35-47.

Van de Casteele, S., Vanheuverzwijn, T., Ruyssen, T., Van Assche, P., Swings, J., & Huys, G. (2006). Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria in combination with yoghurt or cheese starters. *International Dairy Journal, 16*(12), 1470-1476.

Vénica, C. I., Perotti, M. C., & Bergamini, C. V. (2014). Organic acids profiles in lactose-hydrolyzed yogurt with different matrix composition. *Dairy Science & Technology*, *94*(6), 561-580.

Yılmazer, M., & Seçilmiş, H. (2006). Gaz kromatografisi headspace sistemi ile süt ürünlerinde bazı aroma bileşenlerinin analizi. *Türkiye*, *9*, 24-26.

Yildiz, E., & Ozcan, T. (2019). Functional and textural properties of vegetable-fibre enriched yoghurt. *International Journal of Dairy Technology, 72*(2), 199-207.

Zareba, D., Ziarno, M., & Obiedzinski, M. (2012). Volatile profile of non-fermented milk and milk fermented by *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. *International Journal of Food Properties*, *15*(5), 1010-1021.

Zielińska, D., & Kołożyn-Krajewska, D. (2018). Food-origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties. *BioMed Research International*, *2018*.

Zotta, T., Parente, E., & Ricciardi, A. (2017). Aerobic metabolism in the genus Lactobacillus: impact on stress response and potential applications in the food industry. *Journal of Applied Microbiology, 122*(4), 857-869.

Zotta, T., Ricciardi, A., Ianniello, R. G., Storti, L. V., Glibota, N. A., & Parente, E. (2018). Aerobic and respirative growth of heterofermentative lactic acid bacteria: A screening study. *Food Microbiology*, *76*, 117-127.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Hatice Şeyma ALTINKAYNAK
Doğum Yeri ve Tarihi : Çankaya / 17.09.1996
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu
Lise : Tevfik İleri Anadolu İmam Hatip Lisesi
Lisans : Bursa Uludağ Üniversitesi (2014-2019)
Yüksek Lisans : Bursa Uludağ Üniversitesi (2020-2023)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : Bağdat Baharatları Gıda San ve Tic. LTD. ŞTİ. (2022-2023)
Nesco Gıda LTD. ŞTİ. (2023-…)

İletişim (e-posta) : hseymaa@hotmail.com

Yayınları :

Altınkaynak, H. Ş. & Özcan, T. (2021). Glikoz Oksidaz Enzimi Mekanizması ve Süt Ürünlerinde Probiyotik Bakterilerin Gelişimi Üzerine Etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi, 26,* 1-9.