

**PROBİYOTİK BAKTERİLERİN BAKLAGİL UNLARI
İÇEREN *in vitro* KOŞULLARDA VE SÜT MODELİNDE
CANLILIĞININ VE BAZI PROBİYOTİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Merve Begüm ÖZYÜREK



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PROBİYOTİK BAKTERİLERİN BAKLAGİL UNLARI İÇEREN *in vitro*
KOŞULLARDA VE SÜT MODELİNDE CANLILIĞININ VE BAZI
PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Merve Begüm ÖZYÜREK
0000-0001-6889-9938

Prof. Dr. Tülay ÖZCAN
0000-0002-0223-3807
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2020

TEZ ONAYI

Merve Begüm ÖZYÜREK tarafından hazırlanan “Probiyotik Bakterilerin Baklagil Unları İçeren *in vitro* Koşullarda ve Süt Modelinde Canlılığının ve Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Tülay ÖZCAN

Başkan : Prof. Dr. Tülay ÖZCAN
0000-0002-0223-3807
Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İmza

Üye : Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN
0000-0001-9588-6200
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İmza

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖZTÜRK
0000-0002-3919-897X
Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi
Gıda Mühendisliği Bölümü

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hüseyin Aksel EREN
Enstitü Müdürü

08.../.../2020

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

- 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.

07.01.2020

Merve Begüm Özyürek

İmza

Merve Begüm ÖZYÜREK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PROBİYOTİK BAKTERİLERİN BAKLAGİL UNLARI İÇEREN *in vitro* KOŞULLARDA VE SÜT MODELİNDE CANLILIĞININ VE BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Merve Begüm ÖZYÜREK

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Tülay ÖZCAN

Çalışmanın ilk bölümünde, *Lactobacillus casei* ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* probiyotik bakteri suşlarının sırasıyla karbonhidrat içermeyen MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) ve TPY (Tryptone Peptone Yeast Extract) temel besi ortamına ilave edilen baklagil unları ekstraktlarını *in vitro* koşullarda fermente edebilme yetenekleri araştırılmıştır. Besi ortamlarına substrat kaynağı olarak %2 bezelye, kuru fasulye, maş fasulyesi ve börülce unları ile %3 oranında kültür ilave edilerek, 37°C’de 48 saat süreyle anaerobik koşullarda fermantasyona bırakılmıştır. Karbonhidrat kaynağı içermeyen örnek negatif kontrol, %2 glikoz ve %2 inülin içeren örnekler pozitif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Fermantasyonun 0., 24., ve 48., saatlerinde alınan örneklerde hücre yoğunluğu (OD₆₅₀), pH, probiyotik bakteri sayısı, prebiyotik aktivite sayısı (PAS), laktik asit ve kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) miktarları belirlenmiştir. Besi yeri örnekleri probiyotik bakteri sayıları açısından değerlendirildiğinde genel olarak bakteri sayısının tüm örneklerde >7 log₁₀ kob/mL olduğu ve en yüksek bakteri sayısının ise *L. casei* + börülce unu örneğine ait olduğu görülmüştür. Kullanılan bakteri çeşidi ve baklagil unları çeşidine göre KZYA miktarlarının farklılık gösterdiği ve kuru fasulye unu içeren örneklerin laktik asit ve toplam KZYA miktarlarının en yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmanın ikinci bölümünde, rekonstitüe edilen (%11,11 KM) yağsız sütlere %2 baklagil unu ekstraktı (bezelye unu, kuru fasulye unu, maş fasulyesi unu ve börülce unu) ile, %3 oranında *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* probiyotik bakteri kültürleri ayrı ayrı ilave edilerek fermantasyonu izlemek için, süt modeli oluşturulmuştur. Depolama süresince (1., 14., ve 28. günler) fermente süt matrikslerinde mikrobiyel, fizikokimyasal ve tekstürel özellikler incelenmiştir. Süt model sisteminde canlı bakteri sayıları incelendiğinde, *L. casei*’nin *B. animalis* subsp. *lactis*’e göre canlılığını daha yüksek oranda koruduğu tespit edilmiştir. *L. casei* + maş fasulyesi unu örneğinin toplam amino asit bileşimi ve toplam antioksidan aktivitesi ile *B. animalis* subsp. *lactis* + börülce unu örneğinin toplam fenolik madde değeri, farklı unları içeren süt modellerine göre daha yüksek bulunmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, baklagil unları ilave edilmiş *in vitro* model ve süt model sisteminin, *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterilerinin gelişimi için uygun ortamı oluşturduğu ve baklagil unlarının potansiyel prebiyotik etkilerinin olduğu görülmüştür. Depolama boyunca probiyotik bakterilerin sayısının terapötik yarar için önerilen canlı hücre sayısında (>7 log₁₀ kob/g) olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, baklagil, bezelye, kuru fasulye, maş fasulyesi, börülce, *in vitro*, süt modeli

2020, x + 146 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATION of VIABILITY and SOME PROBIOTIC PROPERTIES of PROBIOTIC BACTERIA in *in vitro* CONDITIONS and MILK MODEL SYSTEM ENRICHED with LEGUME FLOURS

Merve Begüm ÖZYÜREK

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

Supervisor: Prof. Dr. Tülay ÖZCAN

The first section of the present study investigates the ability of *Lactobacillus casei* ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* probiotic strains to ferment the legume flour extracts added in carbohydrate-free MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) and TPY (Tryptone Peptone Yeast Extract) basal media under *in vitro* conditions. The basal media supplemented with 2% pea, white kidney bean, mung bean and cowpea flours extracts and inoculated with 3% bacterial culture, were incubated for 48 hours at 37°C under anaerobic conditions. The samples with no carbohydrate was designated as negative control whereas the samples with 2% glucose or inulin were evaluated as positive controls. Optical density (OD₆₅₀), pH, enumeration of probiotic bacteria, prebiotic activity score (PAS), lactic acid and short chain fatty acids (SCFA) contents were analysed on 0, 24 and 48 hours of fermentation. When the samples were examined, it was found that probiotic bacteria counts in all samples were generally >7 log₁₀ cfu/mL and the highest number of bacteria was observed in sample containing *L. casei* + cowpea flour. The content of the SCFA was bacterial species and legumes flour type-dependent. The highest content of lactic acid and total SCFA were found in samples containing white kidney bean flours.

In the second section of the study, the reconstituted milk (11.11% DM) containing 2% legume flour extracts (pea, white kidney bean, mung bean and cowpea flour) and 3% *L. casei* and *B. animalis* subsp. *lactis* probiotic bacteria cultures was used as milk model system and the variations on microbiological, physicochemical and textural properties of fermented milk samples were determined on the 1st, 14th and 28th days of storage. According to the viable cell counts, it was observed that the viability of *L. casei* was higher than *B. animalis* subsp. *lactis* in the milk model system. The values for total amino acid composition and total antioxidant activity of *L. casei* + mung bean flour samples and the total phenolic compounds of *B. animalis* subsp. *lactis* + cowpea flour samples were higher than other milk models for flour samples. The results suggested that the *in vitro* and milk models with legume flours, such as pea, white kidney bean, mung bean and cowpea were good matrices for growth of *L. casei* and *B. animalis* subsp. *lactis* and displayed a potential prebiotic activity. Furthermore, both matrix were able to maintain the prescribed minimum viable counts of bacteria with therapeutic benefits (>7 log₁₀ cfu/g) throughout storage.

Key words: Probiotic, legumes, pea, white kidney bean, mung bean, cowpea, *in vitro*, milk model system

2020, x + 146 pages.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Tülay ÖZCAN danışmanlığında tarafımda hazırlanmış, Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne yüksek lisans tezi olarak sunulmuştur. Çalışmada baklagil unlarının prebiyotik potansiyellerinin *in vitro* koşullarda ve süt modelinde incelenmesi hedeflenmiştir.

Geniş bilgi birikimi ve tecrübesiyle, tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesi konusunda ilgi ve desteklerini esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda kendime örnek aldığım değerli hocam Prof. Dr. Tülay ÖZCAN'a saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmama değerli bilgileri ve sağladıkları laboratuvar imkanları ile yardımcı olan Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ-ERSAN, Doç. Dr. Arzu AKPINAR-BAYİZİT, Doç. Dr. Önder CANBOLAT, Doç. Dr. Nabi Alper KUMRAL ve Araş. Gör. Özüm ÖZOĞLU'na, ayrıca çalışmalarım sırasındaki yardımları için sevgili arkadaşlarım Şengül TEKSOY, Gizem SUNA, Cheima MANSRI, Merve DEMİRAY TEYMUROĞLU ve Saliha KARAMAN MUTLU'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmamın gerçekleştirilebilmesine proje olarak destek sağlayan Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her konuda desteklerini hissettiğim babam Mehmet NARLI ve annem Bedia NARLI'ya, sevgili kardeşlerim Taha Metehan NARLI ve Beril Dilay NARLI'ya, tez çalışmamın başarıya ulaşmasında büyük paya sahip olan sevgili eşim Görkem ÖZYÜREK'e teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi anneme ve babama ithaf ediyorum.

Merve Begüm ÖZYÜREK
10/12/2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	5
2.1. Probiyotikler ve Prebiyotikler.....	7
2.2. Baklagiller	21
2.2.1. Bezelye (<i>Pisum sativum</i> L.).....	24
2.2.2. Kuru fasulye (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	29
2.2.3. Maş fasulyesi (<i>Vigna radiata</i> L. Wilczek)	32
2.2.4. Börülce (<i>Vigna unguiculata</i> L. Walp).....	34
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	36
3.1. Materyal.....	36
3.1.1. Çalışma kapsamında kullanılan mikroorganizmalar	36
3.1.2. Baklagil unları.....	36
3.1.3. Yağsız süt tozu.....	39
3.1.4. İnülin	39
3.2. Yöntem... ..	41
3.2.1. Probiyotik bakterilerin baklagil unları içeren <i>in vitro</i> koşullarda canlılığının ve bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi	41
3.2.2. Probiyotik bakterilerin baklagil unları içeren süt modelinde canlılığının ve bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi	48
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	58
4.1. Baklagil unlarının prebiyotik potansiyellerinin <i>in vitro</i> koşullarda incelenmesi.....	58
4.1.1. <i>L. casei</i> 'nin <i>in vitro</i> koşullarda gelişiminin belirlenmesi	58
4.1.2. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in <i>in vitro</i> koşullarda gelişiminin belirlenmesi	65
4.1.3. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in besi yeri örneklerindeki gelişme oranlarının karşılaştırılması.....	71
4.1.4. Baklagil unlarının prebiyotik aktivite sayısının (PAS) belirlenmesi	75
4.1.5. Laktik asit ve kısa zincirli yağ asitleri (KZYA)'nin belirlenmesi	77
4.2. Baklagil unları içeren süt modelinde bazı probiyotik özelliklerin belirlenmesi	83
4.2.1. Baklagil unları içeren süt modelinde mikrobiyolojik özellikler	83
4.2.2. Baklagil unları içeren süt modelinde fizikokimyasal özellikler	90
5. SONUÇ	125
KAYNAKLAR.....	130
ÖZGEÇMİŞ.....	146

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
\log_{10}	10 tabanında logaritma
subsp.	Alt tür
dk	Dakika
g	Gram
g.s	Gramsaniye
g/L	Gram/Litre
HCl	Hidroklorik asit
kcal/kJ	Kilokalori/Kilojoule
kg	Kilogram
kob	Koloni oluşturan birim
L	Litre
μm	Mikron
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
ppm	Milyonda bir
rpm	Revolution per minute (Dakikada devir sayısı)
s	Saniye
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
cm	Santimetre
%	Yüzde
K_2SO_4	Potasyum sülfat
Cu_2SO_4	Bakır (II) sülfat
H_2SO_4	Sülfirik asit
H_3BO_3	Borik asit
NaCl	Sodyum klorür

Kısaltmalar Açıklama

AACC	American Association of Cereal Chemists (Amerikan Hububat Kimyacıları Birliği)
AOAC	Association of Analytical Communities (Analitik Topluluklar Birliği)
AB	Avrupa Birliği
ANOVA	Analisis of Variance (Varyans Analizi)
CAC	Codex Alimentarius Commission (Gıda Standartları Komisyonu)
EFSA	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
FAO	Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
FDA	Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç Dairesi)
FOSHU	Foods for Specified Health Use (Özel Sağlık Kullanımı İçin Olan Gıdalar)
ISAPP	The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (Uluslararası Probiyotik ve Prebiyotik Bilim Derneği)
KZYA	Kısa Zincirli Yağ Asitleri
LAB	Laktik Asit Bakterileri
LSD	Least Significant Difference (En Küçük Anlamlı Fark)
MRS	de Man, Rogosa and Sharpe
ns	Not Significant (Önemli Değil)
OD	Optik Yoğunluk
PAS	Prebiyotik Aktivite Sayısı
TMO	Türkiye Toprak Mahsülleri Ofisi
TPY	Trypton Pepton Maya Ekstrakt
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
GRAS	Generally Recognized as Safe (Genellikle Güvenilir Kabul Edilen)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Probiyotik bakterilerin tanımlanmasında uygulanan biyokimyasal testler	10
Şekil 2.2. Probiyotik bakterilerin stabilitesine etki eden faktörler	11
Şekil 2.3. Probiyotiklerin insan sağlığı üzerine yararlı etkileri	13
Şekil 2.4. Sağlıklı bir bireyin mide-bağırsak sistemindeki mikrobiyel çeşitlilik	14
Şekil 2.5. <i>Lactobacillus</i> (a) ve <i>Bifidobacterium</i> (b) türlerinin morfolojik yapısı.....	16
Şekil 2.6. <i>Bifidobacterium</i> türlerinin tanımlanması.....	17
Şekil 2.7. Bezelye (<i>Pisum sativum</i> L.)	25
Şekil 2.8. Kuru fasulye (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	30
Şekil 2.9. Maş fasulyesi (<i>Vigna radiata</i> L. Wilczek)	32
Şekil 2.10. Börülce (<i>Vigna unguiculata</i> L. Walp.)	35
Şekil 3.1. Probiyotik bakterilerin ilgili besi yerinde gelişimlerinin incelenmesi	41
Şekil 3.2. Probiyotik bakterilerin süt modelinde gelişimlerinin incelenmesi	48
Şekil 3.3. Fermente süt matriksine ait üretim akış şeması	51
Şekil 3.4. Fermente süt matrikslerine ait görseller	52
Şekil 3.5. Hunter renk sistemindeki parametrelerin (L^* , a^* , b^*) skalası.....	54
Şekil 4.1. Fermantasyon boyunca besi yeri örneklerindeki OD ₆₅₀ (a), pH değerleri (b) ve <i>L. casei</i> sayısı (log ₁₀ kob/mL) (c)	64
Şekil 4.2. Fermantasyon boyunca besi yeri örneklerindeki OD ₆₅₀ (a), pH değerleri (b) ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> sayısı (log ₁₀ kob/mL) (c).....	70
Şekil 4.3. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca, besi yeri örneklerinde OD ₆₅₀ (a), pH değerleri (b) ve probiyotik bakteri sayısı (log ₁₀ kob/mL) (c).....	74
Şekil 4.4. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyerlerindeki laktik asit, asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit ve toplam KZYA miktarları (g/L)	82
Şekil 4.5. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürleri kullanılan süt matrikslerindeki bakteri sayılarındaki (log ₁₀ kob/g) değişim.....	89
Şekil 4.6. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürleri kullanılan süt matrikslerinde 24 saat süresince pH değişimleri	91
Şekil 4.7. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerindeki pH değerleri.....	95
Şekil 4.8. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürleri kullanılan süt matrikslerinde L^* (a), a^* (b), b^* (c) değerlerinin değişimi	103
Şekil 4. 9. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürleri kullanılan süt matrikslerinde protein değerlerinin değişimi.....	107
Şekil 4.10. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürleri kullanılan süt matrikslerinde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerlerinin değişimi	116
Şekil 4.11. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinin depolama süresince sıklık (g), konsistens (gs), iç yapışkanlık (g), ve viskozite indeksi (gs) değerleri.....	124

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Bezelye, kuru fasulye, maş fasulyesi ve börülce için Dünya genelinde kullanılan isimler	23
Çizelge 2.2. Yeşil bezelye ununa ve sarı bezelye ununa ait amino asit bileşimleri	26
Çizelge 2.3. Maş fasulyesi protein izolatlarının içerdiği amino asit kompozisyonları...	33
Çizelge 3.1. Bezelye ununa ait enerji ve besin değerleri	37
Çizelge 3.2. Kuru fasulye ununa ait enerji ve besin değerleri.....	37
Çizelge 3.3. Maş fasulyesi ununa ait enerji ve besin değerleri	38
Çizelge 3.4. Börülce ununa ait enerji ve besin değerleri	38
Çizelge 3.5. Yağsız süt tozuna ait bileşenler.....	39
Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan inülin ürününe ait özellikler	40
Çizelge 3.7. Bazal gelişme ortamı bileşimi.....	42
Çizelge 3.8. <i>Lactobacillus casei</i> için gelişme ortamı olan MRS sıvı besi yeri bileşimi.	43
Çizelge 3.9. <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> için gelişme ortamı olan TPY sıvı besi yeri bileşimi.....	43
Çizelge 3.10. Probiyotik bakterilerin ilgili besiyerlerinde gelişmelerinin incelenmesine ait deneme deseni	45
Çizelge 3.11. Fermente süt matrisine ait deneme deseni	50
Çizelge 4.1. <i>L. casei</i> için 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca besi yeri örneklerindeki OD ₆₅₀ , pH değişimi ve <i>L. casei</i> sayısı (log ₁₀ kob/mL).....	59
Çizelge 4.2. <i>L. casei</i> için 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca besi yeri örneklerindeki OD ₆₅₀ , pH değişimi ve <i>L. casei</i> sayısı (log ₁₀ kob/mL) değerlerine ait LSD testi sonuçları.....	61
Çizelge 4.3. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> sayısı için 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca besi yeri örneklerindeki OD ₆₅₀ , pH değişimi ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> sayısı (log ₁₀ kob/mL).....	66
Çizelge 4.4. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> sayısı için 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca besi yeri örneklerindeki OD ₆₅₀ , pH değişimi ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> sayısı (log ₁₀ kob/mL) değerlerine ait LSD testi sonuçları	69
Çizelge 4.5. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca, besi yeri örneklerinde OD ₆₅₀ , pH ve bakteri sayısı (log ₁₀ kob/mL) değerlerine aist LSD testi sonuçları	73
Çizelge 4.6. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in baklagil unları ilaveli besi ortamlarındaki PAS değerleri.....	76
Çizelge 4.7. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in baklagil unları ilaveli besi ortamlarındaki PAS değerlerine ait LSD testi sonuçları.....	76
Çizelge 4.8. <i>L. casei</i> 'nin 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besi yerindeki laktik asit, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarları (g/mL).....	78
Çizelge 4.9. <i>L. casei</i> 'nin 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besi yerindeki laktik asit, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarlarına (g/mL) ait LSD testi sonuçları....	78
Çizelge 4.10. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besi yerindeki laktik asit, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarları (g/mL)	79
Çizelge 4.11. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besi yerindeki laktik asit, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarlarına (g/mL) ait LSD testi sonuçları.....	80

Çizelge 4.12. <i>L.casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyerlerindeki laktik asit, asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit ve toplam KZYA miktarlarına (g/mL) ait LSD testi sonuçları	81
Çizelge 4.13. <i>L. casei</i> kültürü kullanılan süt matrikslerindeki bakteri sayısı (\log_{10} kob/g)... ..	83
Çizelge 4.14. <i>L. casei</i> kültürü kullanılan süt matrikslerindeki bakteri sayısına (\log_{10} kob/g) ait LSD testi sonuçları.....	84
Çizelge 4.15. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerindeki bakteri sayısı (\log_{10} kob/g).....	85
Çizelge 4.16. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerindeki bakteri sayısına (\log_{10} kob/g) ait LSD testi sonuçları.....	86
Çizelge 4.17. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürleri kullanılan süt matrikslerindeki bakteri sayılarına (\log_{10} kob/g) ait LSD testi sonuçları	87
Çizelge 4.18. <i>L. casei</i> kültürü kullanılan süt matrikslerindeki pH değerleri.....	92
Çizelge 4.19. <i>L. casei</i> kültürü kullanılan süt matrikslerindeki pH değerlerine ait LSD testi sonuçları	92
Çizelge 4.20. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerindeki pH değerleri.....	93
Çizelge 4.21. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerindeki pH değerlerine ait LSD testi sonuçları	94
Çizelge 4.22. <i>L.casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürleri kullanılan süt matrikslerindeki pH değerleri değerlerine ait LSD testi sonuçları	95
Çizelge 4.23. <i>L. casei</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinde L^* , a^* , b^* değerlerinin değişimi	97
Çizelge 4.24. <i>L. casei</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinde L^* , a^* , b^* değerlerine ait LSD testi sonuçları.....	98
Çizelge 4.25. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinde L^* , a^* , b^* değerlerindeki değişim	100
Çizelge 4.26. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinde L^* , a^* , b^* değerlerine ait LSD testi sonuçları	101
Çizelge 4.27. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürleri kullanılan süt matrikslerinde L^* , a^* , b^* değerlerine ait LSD testi sonuçları	102
Çizelge 4.28. <i>L. casei</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinde protein değerleri (%).....	105
Çizelge 4.29. <i>L. casei</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinde protein değerlerine ait LSD testi sonuçları.....	105
Çizelge 4.30. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinde protein (%) değerleri.....	106
Çizelge 4.31. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinde protein değerlerine ait LSD testi sonuçları	106
Çizelge 4.32. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürleri kullanılan süt matrikslerinde protein değerlerine ait LSD testi sonuçları.....	107
Çizelge 4.33. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürleri kullanılan süt matrikslerindeki amino asit değerleri ($\mu\text{g} / \text{g}$)	110
Çizelge 4.34. <i>L. casei</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerleri.....	111
Çizelge 4.35. <i>L. casei</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerlerine ait LSD testi sonuçları.....	112

Çizelge 4.36. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerleri	113
Çizelge 4.37. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerlerine ait LSD testi sonuçları	114
Çizelge 4.38. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürleri kullanılan süt matrikslerinde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerlerine ait LSD testi sonuçları.....	115
Çizelge 4.39. <i>L. casei</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinin tekstürel özellikleri	118
Çizelge 4.40. <i>L. casei</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinin tekstürel özelliklerine ait LSD testi sonuçları.....	119
Çizelge 4.41. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinin tekstürel özellikleri.....	121
Çizelge 4.42. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinin tekstürel özelliklerine ait LSD testi sonuçları.....	122
Çizelge 4.43. <i>L. casei</i> ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> kültürü kullanılan süt matrikslerinin tekstürel özelliklerine ait LSD testi sonuçları	123

1. GİRİŞ

Fonksiyonel gıdalar; proteinler, karbonhidratlar, yağ asitleri, vitaminler, mineraller, diyet lifleri, antioksidanlar gibi temel besin öğelerinin dışında, istenen gereksinimler doğrultusunda zenginleştirilen ve takviye edilen besinleri içeren gıdalardır. Son yıllarda insan sağlığı üzerine olumlu etkileri olan fonksiyonel gıdaların, nutrasötiklerin ve gıda takviyelerinin rolüne ilişkin yapılan araştırmalarda artış görülmektedir (O'Connor 2017, Brown ve ark. 2018).

Süt endüstrisi; tüketicilerin sağlıklı gıdalara olan taleplerinin artması nedeniyle, fonksiyonel özellikler içeren yeni gıdaların üretilmesi konularına yönelmektedir. Bu bakımdan, süt ürünleri üretiminde sıklıkla kullanılan, insanların üst gastrointestinal sisteminde sindirelemeyen bileşenleri içeren ve seçici olarak istenen bakterilerin gelişimini tetikleyen prebiyotikleri ve *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri gibi probiyotik bakterileri içeren terapötik gıda formülasyonları raflarda yer almaya başlamaktadır. Bu ürünlerin kullanımı ile beraber de bağırsakların mikrobiyel bileşimleri faydalı yönde değişmektedir (Betoret-Valls ve ark. 2011, Akin ve Ozcan 2017).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde fermente edilmiş gıdaların antik zamanlardan beri tüketilmekte olduğu ancak probiyotik gıdaların son yüzyılda insanların beslenme alışkanlıklarına dahil edildiği görülmektedir. Süt ve süt ürünleri probiyotiklerin taşınması için en uygun besin gruplarından. Sağlık etkileri son derece yüksek olan süt, yoğurt, peynir, kefir gibi fermente ürünler tüketiciye sunulmakta, fermente olmayan dondurma, bebek maması formülasyonları, çikolatalı tatlılar gibi ürünler de probiyotik suşlar ile desteklenerek, bu gıdaların da faydalarının artması sağlanmaktadır (Aragon-Alegro ve ark. 2007, Prado ve ark. 2015, Baglatzi ve ark. 2016, Linares ve ark. 2017).

Probiyotiklerin sağlık üzerine etkileri konusunda yapılan klinik araştırmalarda, gastrointestinal enfeksiyonları azalttığı, laktoz metabolizmasında iyileşmeye neden olduğu, antimutajenik ve antikarsinojenik özelliklere sahip olduğu, immün sistem üzerinde uyarıcı etkilerinin olduğu, *Helicobacter pylori* enfeksiyonunu baskılayabildiği

gibi birçok etkisinin olduğu saptanmıştır (Playne ve ark. 2003, Shah 2007, Hekmat ve ark. 2009, Zare ve ark. 2013, Ahmad ve Khalid 2018).

Baklagiller; protein, mineral, vitamin ve biyoaktif bileşenler açısından oldukça zengin kaynaklardır, bu nedenle beslenmenin önemli bir parçasını oluşturmaktadırlar. İnsan sağlığı üzerine yararlı etkileri olan bu baklagil tohumlarının işlenmesi ve tohumlardan yeni gıda ürünleri üretilmesi konularında, dünya çapında bir artış görülmektedir. Özellikle son yıllarda vejetaryen beslenmeye olan yönelimin de artmasıyla, baklagil ve tahıllar beslenmede önemli yer tutmaktadır (Aguilera ve ark. 2011, Magalhaes ve ark. 2017).

Baklagiller, birçok fizyolojik ve metabolik süreçte önemli rol oynamakla birlikte insanlar için biyolojik değeri yüksek fenolik bileşiklerin de kaynağıdır. Fenolik bileşiklerin büyük bir çoğunluğu baklagil tohumlarının çekirdeklerinde yoğunlaşmaktadır. Bu biyoaktif bileşikler, gıdanın tadının, kokusunun ve aromasının oluşmasında belirleyici faktörlerdir. Ayrıca serbest radikallerin uzaklaştırılmasına yardımcı olmakta, proteinler ile etkileşime girebilmekte ve antioksidan özelliğinin oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Bu sebepler ile baklagillerin, yeni terapötik gıdalar olarak kullanımlarına olan ilginin giderek arttığı görülmektedir (Aguilera ve ark. 2011, Sabate ve Soret 2014, Singh ve ark. 2017).

Tane baklagillerin kuru madde oranının %55-65' ini karbonhidratlar oluşturmaktadır. Baklagil karbonhidratları, az miktarda yavaş sindirilen karbonhidrat bileşenlerini ve yüksek miktarda sindirelemeyen ancak bağırsakta fermente edilebilen diyet liflerini ya da prebiyotik bileşenleri içermektedirler. Bağırsağa ulaşan bu karbonhidratlar temel olarak; dirençli nişasta (sağlıklı bireylerin ince bağırsağında sindirilemeyen nişasta), çözünebilir ve çözünemeyen diyet lifleri ve sindirilemeyen çoklu şekerlerdir. Örneğin bezelye baklagilinde toplam diyet lifi oranı %14 ile 26 arasında değişirken, kuru fasulyede %23 ile 32 civarında, maş fasulyesinde %25 ve börülcede ise %6-7 civarında bulunmaktadır (Osorio-Diaz ve ark. 2002, Timko ve ark. 2007, Brummer ve ark. 2015, Yasmeen ve ark. 2017).

Besinsel lifler sindirim sistemi enzimleri tarafından hidrolize edilemeyen farklı özelliklere sahip karbonhidratları içermekle birlikte, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri gibi bazı probiyotik bakterilerin yardımıyla fermente edilmekte ve kalın bağırsakta bu bakterilerin hücrel popülasyonlarındaki artışla beraber laktik asit ve kısa zincirli yağ asitleri (SCFA, KZYA) oluşumu gerçekleşmektedir. Asetik asit, bütirik asit ve propiyonik asit gibi KZYA'lar özellikle bağırsakların asitliğinin artmasında ve gerekli metabolik enerjinin sağlanmasında görev almaktadırlar (Plaza-Diaz ve ark. 2019, Venegas ve ark. 2019).

İnsan sağlığına yararlı birçok etkileri bulunan probiyotik bakterilerin baklagillerle birlikte kullanımının araştırılması ve besin içeriği yüksek çeşitli gıda ürünleri üretiminin gerçekleştirilmesi amacıyla bu konularda daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasında hayatta kalma yeteneği gösteren probiyotik bakterilerin işlevselliklerini devam ettirebilmeleri için gerekli olan enerji; fruktooligosakkaritler, laktuloz, laktitol, galaktooligosakkaritler ve soya fasulyesi oligosakkaritleri gibi oligosakkaritler tarafından sağlanabilmektedir. Bu oligosakkaritlerin sindirimini sağlayan α -galaktosidaz enzimi, insan sindirim sistemi tarafından üretilmemekte ve bu oligosakkaritler prebiyotik olarak fermente edilebilmektedirler. Kuru fasulye ve bezelyede yüksek oranda bulunan galaktooligosakkaritler ve çoğu baklagilde bulunan dirençli nişasta, probiyotik bakterilerin gelişimini destekleyen bileşenlere örnek olarak verilmektedir (Ranadheera ve ark. 2010, Zare ve ark. 2013, Fan ve ark. 2014, Kerry ve ark. 2018).

Probiyotik ürünlerin geliştirilmesinde uygun gıda matriksinin seçimi, raf ömrü boyunca üründe meydana gelen biyokimyasal değişimlere ve bakteri sayısına, gastrointestinal sistemdeki mikroorganizmaların hayatta kalmasına ve çoğalmasına etki etmesi sebebiyle önem teşkil etmektedir (Ranadheera ve ark. 2010).

Bu çalışmada, bitkisel protein, diyet lifi, vitamin ve mineral kaynağı olan baklagillerden; bezelye, kuru fasulye, maş fasulyesi ve börülce unlarının prebiyotik olarak kullanım potansiyellerinin *in vitro* koşullarda ve *Lactobacillus casei* ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* probiyotik kültürlerini içeren fermente süt modelinde, canlılığının ve

gelişiminin araştırılması, probiyotik özelliklerinin belirlenmesi, ayrıca üretilen fermente sütün fermantasyon ve depolama boyunca mikrobiyel, fizikokimyasal ve tekstürel özelliklerinin izlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında;

- I) *Lactobacillus casei* ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* türlerinin bezelye, kuru fasulye, maş fasulyesi ve börülce unları içeren *in vitro* besi ortamında gelişimlerinin ve canlılığının incelenmesi,
- II) Prebiyotik aktivite sayısı (PAS)'nın belirlenmesi,
- III) Karbonhidrat içeren baklagillerin, potansiyel prebiyotik kaynağı olarak kullanımları ve probiyotik bakterilerin gelişimi ile oluşan laktik asit ve kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA) kompozisyonunun belirlenmesi,
- IV) *Lactobacillus casei* ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* türlerinin bezelye, kuru fasulye, maş fasulyesi ve börülce unları içeren süt matriksinde gelişimlerinin incelenmesi,
- V) Üretimi yapılan fermente sütlerde fizikokimyasal (pH, protein, renk (L^* , a^* , b^* değerleri)) ve tekstürel analizlerin incelenmesi ile ürünün teknolojik özelliklerinin belirlenmesi,
- VI) Baklagillerin protein içeriği ile besinsel ve biyolojik etkisinin yorumlanabilmesi amacıyla, süt matriksinde amino asit kompozisyonunun belirlenmesi,
- VII) Antioksidan ve fenolik bileşik kompozisyonunun belirlenmesi ile süt matriksinin fonksiyonel özelliklerinin tanımlanması,
- VIII) Yapılan analizler sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinin yapılması ve besi yeri çeşidi, fermantasyon süresi, baklagil unları çeşidi, depolama süresi etkisinin ve aralarındaki etkileşimlerin açıklanması ve yorumlamaların yapılması amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

2000’li yıllardan itibaren gelişen fonksiyonel gıda üretimi, tüketicilerin besleyici, güvenli, doğal ve sağlıklı gıdaya olan talepleri doğrultusunda giderek önem kazanmaktadır. Bir besin kaynağının fonksiyonel gıda olarak sayılabilmesi için; doğal bileşenlerden üretilmiş olması ve tüketildiğinde vücuda fizyolojik açıdan fayda sağlıyor olması gerekmektedir (Menrad 2003, Arihara 2006, Khan ve ark. 2011, Birch ve Bonwick 2019).

Besinsel içeriği yüksek gıdaların beslenme düzenlerine dahil edilmesiyle beraber sağlık üzerindeki etkilerinin ve tüketim oranlarının arttığı görülmüştür. 1980’li yıllarda Japonya’da oluşturulan FOSHU (Foods For Specific Health Use, Özel Sağlık Kullanımı İçin Olan Gıdalar) kavramı ile fonksiyonel gıdalar için düzenleyici çerçeveler çizilmiştir. FOSHU kriterlerine göre modifiye edilmiş fonksiyonel gıdaların şu özellikleri taşıması gerekmektedir;

- i. Tüketilen ürünlerin sağlık üzerine fayda sağlaması,
- ii. Ürünün sağlık üzerine yararları hakkında bilimsel çalışmaların yapılmış olması,
- iii. Fonksiyonel bileşenlerin besinsel içeriklerinin kanıtlanmış olması,
- iv. Fonksiyonel ürünlerin insanların tüketimi için güvenli olması,
- v. Fonksiyonel olduğu belirtilen ürünün fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak sahip olduğu özelliklerin nitel ve nicel analiz yöntemleri ile tanımlanmış olması,
- vi. Gıdaların işlenmesi ve depolanması süresince üründe önem teşkil edecek değişikliklerin olmaması,
- vii. Sağlık etkisinin maksimum düzeyde fayda sağlayabilmesi için günlük belirli miktarlarda tüketiliyor olması,
- viii. Ürünün tıbbi amaçlı kullanılan ilaç sınıfına dahil olmaması (Kaur ve Singh 2017, Birch ve Bonwick 2019).

Nutrasötikler olarak da adlandırılan fonksiyonel gıdalar, gıda endüstrisinin büyümeye devam eden alanlarından biri olarak görülmektedir. Bu büyümenin itici gücü, tüketicilerin sağlıklı gıdaya olan ilgilerinin artması ve günlük beslenme düzenlerinde aktif rol almak

istemeleridir. Artan sağlık sorunları da tüketiciler üzerinde farkındalık yaratmakta ve tüketicileri sağlıklarını korumanın etkili ve uygun yollarını aramaya teşvik etmektedir (Champagne ve Mollgaard 2008, Birch ve Bonwick 2019).

Fonksiyonel gıdaların üretilmesindeki amaç, tüketiciler için dengeli bir beslenme düzeni oluşturmanın yanısıra, kalp-damar hastalıkları, obezite, şeker hastalığı, osteoporoz, yüksek tansiyon gibi kronik rahatsızlıkların giderilmesini sağlamaktır. Bu sebeple probiyotik mikroorganizmalar ve/veya prebiyotikleri içeren fonksiyonel gıda üretimleri son yıllarda büyük ilgi görmektedir (Siro ve ark. 2008, Bhat ve Bhat 2011, Rodrigues ve ark. 2012).

Dünya genelindeki fonksiyonel gıda pazarı göz önüne alındığında süt ve süt ürünlerinin payı yüksektir ve fonksiyonel içecekler de bu sektörün önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Saxelin ve ark. (2003) süt ürünlerini üç gruba ayırmaktadır;

- i. Temel süt ürünleri: yoğurt, tereyağı, peynir, dondurma gibi klasik süt ürünleri,
- ii. İlaveli/zenginleştirilmiş süt ürünleri: düşük laktoz içerikli veya laktozsuz ürünler, bazı vitaminler ve/veya mineraller ile zenginleştirilmiş sütler, bebekler için hipoalerjenik formüller,
- iii. Fonksiyonel süt ürünleri: temel besin ögesi içeriğinin dışında sağlığa yararlı etkileri olan süt veya süt dışı gıda bileşenleri ile zenginleştirilmiş ürünler.

Fonksiyonel gıdaların içerisinde fonksiyonel süt ürünleri, diyet lifi, omega-3, fitosterol, izoflavanoid, konjuge linoleik asit, mineraller ve vitaminler gibi bileşenleri içermekte ve sağlıklı gıdalar olarak önemli rol oynamaktadır. Probiyotik bakterilerin gelişimi için uygun ortam koşullarına sahip olan süt ürünlerinden fermente gıdaların üretilmesiyle, gıdalar daha uzun süre korunup muhafaza edilmekte, besin değerleri arttırılmakta ve duyuşsal özellikleri geliştirilmektedir (Saarela 2009, Abd El-Salam ve ark. 2011, Champagne ve ark. 2018, Karaman ve Özcan 2018).

Türk Gıda Kodeksi'ne göre fermente süt ürünleri; 'sütün uygun mikroorganizmalar tarafından fermantasyonu ile pH değerinin koagülasyona yol açacak veya açmayacak

şekilde düşürülmesi sonucu oluşan ve içermesi gereken mikroorganizmaları yeterli sayıda, canlı ve aktif olarak bulunduran süt ürünleri' şeklinde tanımlanmaktadır. Tebliğin Ek-2'de belirtilen ürün özelliklerine göre fermente süt ürünleri 'en az 10^7 kob/g toplam spesifik mikroorganizma' ve 'en az 10^6 kob/g etikette belirtilen toplam ilave mikroorganizma' içermelidir (Anonim 2009).

2.1. Probiyotikler ve Prebiyotikler

Rus asıllı bir mikrobiyolog olan Elie Metchnikoff, 20.yy'ın başlarında bağışıklık sistemi üzerine yaptığı çalışmalarında, besinsel takviyelerin bağırsak florası üzerine olumlu etkileri olduğunu ve toksin üreten bakterilerin gelişimlerini baskıladığını söyleyerek probiyotik çalışmalarının temelini atmıştır (Lourens-Hattingh ve Viljoe 2001, Govender ve ark. 2014).

Metchnikoff'un teorisinden sonra bilim insanları bu konudaki araştırmalarını sürdürmeye devam etmişler ve *Lactobacillus acidophilus*'un bazı suşlarını izole etmeyi başarmışlardır. Rettger ve Horton (1914) ve Rettger ve Cheplin (1920a, 1920b) fareler ve insanlar üzerine yapmış oldukları çalışmalarında, beslenme düzenine ilave edilen süt ve/veya laktozun, bağırsaklarda Asidofilus ve Bifidus türlerinin miktarını arttırdığını göstermişlerdir. Bu bulgular fermente edilmiş ürünlere olan ticari ilgiyi arttırmaya başlamıştır.

Japon mikrobiyolog Minoru Shirota, 1930 yılında mide-bağırsak sisteminde canlı halde kalabilen bir bakteri olan *Lactobacillus casei* Shirota suşunu izole etmeyi başarmış ve 'yakult' ismiyle bilinen fermente süt ürünü üretiminde başarıyla kullanmıştır. 1930'ların sonları ve 1950 yılları arasında dünya genelinde yaşanan savaşlar gibi olağanüstü koşulları nedeniyle hız kaybetse de, 1950'lerin başlarında çalışmalar tekrar ilgi kazanarak probiyotik konseptinin ortaya çıkmasına imkan tanımıştır (Vasiljevic ve Shah 2008).

Terminolojik olarak ilk defa Vergin (1954) tarafından kullanılan ve 'yaşam için' anlamına gelen 'probiyotik' kelimesi, Lilly ve Stillwell (1965) tarafından 'diğer mikropların gelişmesini teşvik eden mikroplar' olarak tanımlanmıştır. Fujii ve Cook

(1973) yaptıkları çalışmalarda probiyotiklerin içinde bulunduğu konak hücredeki enfeksiyonlara karşı direnç oluşturabildiğini ve bunu yaparken *in vitro* kültürün gelişmesini baskılamadığını belirtmişlerdir.

Parker (1974) probiyotikleri, bağırsakların mikrobiyel dengesinin oluşmasına yardımcı olan mikroorganizmalar olarak tanımlamıştır. Bu tanım günümüzdeki tanımlara yakın olmakla beraber, o dönemin yazarları tarafından antibiyotikleri dahi içine alabilecek bir tanım olduğu gerekçesiyle eleştirilmiştir. Fuller (1992) hayvanlar üzerine yaptığı çalışmalar sonucunda probiyotiklerin sindirim sistemi üzerinde faydaları olan mikrobiyel besin takviyesi olduklarını belirtmiştir.

Salminen ve ark. (1999) yaptıkları araştırmalar sonucunda probiyotikleri, tüketildikleri zaman konakçının sağlığı üzerine yararlı etkileri olan mikroorganizmaları içeren maddeler ve bu maddelerden üretilmiş süt ürünleri olarak tanımlamaktadır. Schrezenmeir ve De Vrese (2001) ise bu mikroorganizmaların yeterli sayıda ve canlı halde bulunuyor olduğunu belirterek literatüre katkı sağlamıştır.

Anadon ve ark. (2006) probiyotikleri, yeterli miktarda tüketildiklerinde sağlık üzerine olumlu etkileri olan bakterileri ve mayaları içeren canlı mikroorganizmalar olduğunu belirterek, en geniş tanımlamalardan birini yapmıştır. 2000’li yıllardan günümüze bu faydalı mikroorganizmaların sağlığımız üzerine etkileri araştırılmaya devam etmektedir (Vasiljevic ve Shah 2008, Lauzon ve ark. 2014, Calatayud ve Suárez 2017, Barat ve Ozcan 2018, Champagne ve ark. 2018, Corbo ve ark. 2018).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) hazırladığı rapora göre probiyotik mikroorganizmaların; mide ve safra asidine karşı dirençli olması, potansiyel patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel etki gösterebilmesi, insan epitel hücreleriyle uyum gösterebilmesi, safra hidrolaz enzimlerini aktifleştirebilmesi gibi özelliklere sahip olması gerekmektedir (Anonim 2002).

Govender ve ark. (2014)'na göre; bir mikroorganizmanın probiyotik olarak sayılabilmesi için;

- i. insanların mide-bağırsak sisteminde doğal olarak bulunuyor olmalıdır.
- ii. bağırsak florasını istenmeyen mikroorganizmalara karşı koruyan antimikrobiyel bileşenler üretebilmelidir.
- iii. mide asidi, safra tuzları, oksijen ve enzimlere karşı stabilitesini koruyabilme özelliği taşımaktadır.
- iv. bağırsak duvarına yüksek oranda tutunabiliyor olmalıdır.
- v. antibiyotiklere karşı dirençli olmalıdır.
- vi. tüketime uygun ve insan sağlığına fayda sağlıyor olmalıdır.

Probiyotik bakterilerin tanımlanması aşamalarında test edilen özellikler Şekil 2.1.'de şematize edilmektedir (Iannitti ve Palmieri 2010, Arora ve Baldi 2017). Probiyotik bakterilerin, gıdaların emilimini artırarak sindirim sisteminin düzenlenmesi, bağırsak mikrobiyotasının iyileştirilmesi, antimikrobiyel bileşenlerin üretilmesi gibi doğrudan ve dolaylı bir çok etkisi bulunmaktadır (Fioramonti ve ark. 2003, Taverniti ve Guglielmetti 2011).

Probiyotiklerin bu biyolojik görevlerini yerine getirebilmeleri için, ilave edildikleri gıdalara uygulanan proses koşullarından, mide-bağırsak sisteminin son aşamasına kadar olan koşullara karşı dayanıklı olmaları gerekmektedir. Bu koşullar, ısı değişimleri, osmotik basınç değişimleri, oksidasyon, midedeki kuvvetli asit ve safra konsantrasyonları gibi değişkenler olabilmektedir (Mills ve ark. 2011, Tripathi ve Giri 2014). Probiyotik bakterilerin stabilitesini etkileyen faktörler Şekil 2.2.'de verilmektedir (Soccol ve ark. 2010).

Düşük pH ve yüksek asitlikten kaynaklı stres, midedeki hidroklorik asit varlığının doğal etkisi ile ortaya çıkabileceği gibi, fermente süt ürünlerinin fermantasyonu sonucunda laktozun laktik asite ve diğer organik asitlere dönüşümü ile de meydana gelebilmektedir. Asitlikten kaynaklı stres mikroorganizmalarda hücre zarı, DNA ve proteinlere zarar verebilmektedir bu sebeple probiyotik formülasyonlarda kullanılacak olan bakteriler

yüksek asitlik koşullarını tolere edebilecek kapasitede olmalıdır (De Dea Lindner ve ark. 2007, Sanchez ve ark. 2007, Corcoran ve ark. 2008, Wesche ve ark. 2009).

Asidik ortam koşullarına dayanıklılık	<ul style="list-style-type: none">• Belirli bir inkübasyon süresi boyunca, farklı pH koşullarına ayarlanmış olan mide-bağırsak simülasyonunda bakterilerin canlılığının test edilmesi (Pelinescu ve ark. 2009)
Safra tuzu toleransı	<ul style="list-style-type: none">• Kolesterol dengesini sağlamada önemli etkileri olan safra tuzlarının probiyotik bakteri suşları üzerine olan etkisinin test edilmesi (Tok ve Aslım 2007)
Antibiyotiklere karşı direnç	<ul style="list-style-type: none">• Tarama yöntemiyle çeşitli bakterilerin, amoksisilin, gentamisin, tetrasiklinler, klindamisin, kanamisin, nalidiksik asit gibi farklı türde antibiyotikler üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi (Gueimonde ve ark. 2013)
Jelatinaz enzimi aktivitesi	<ul style="list-style-type: none">• Mikroorganizmanın jelatini daha küçük polipeptidlere, peptidlere, ve organizma tarafından kullanılabilen amino asitlere hidrolize eden jelatinaz ekoenzimi üretime yeteneğinin araştırılması (Stamatova ve ark. 2007)
Antimikrobiyel aktivite	<ul style="list-style-type: none">• Laktik ve asetik asit gibi organik asitlerin ve hidrojen peroksit, etanol, diasetil, asetaldehit, asetoin, karbon dioksit, reuterin, reuterisiklin ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyel metabolitlerin üretiminin değerlendirilmesi (Ahmadova ve ark. 2013)
Fermantasyon profili	<ul style="list-style-type: none">• Çeşitli probiyotik türler tarafından karbonhidratların kullanımının değerlendirilmesi (Shehata 2012)

Şekil 2.1. Probiyotik bakterilerin tanımlanmasında uygulanan biyokimyasal testler



Şekil 2.2. Probiyotik bakterilerin stabilitesine etki eden faktörler

Probiyotik bakterilerin stabilitesi üzerine etkili olan bir diğer etken enzimlerdir. Örneğin midedeki pepsin enzimi, proteinlerin hücre zarının yapısını hidrolize edebilmekte bu da sitoplazma zarının bütünlüğünü bozabilmektedir (Mills ve ark. 2011).

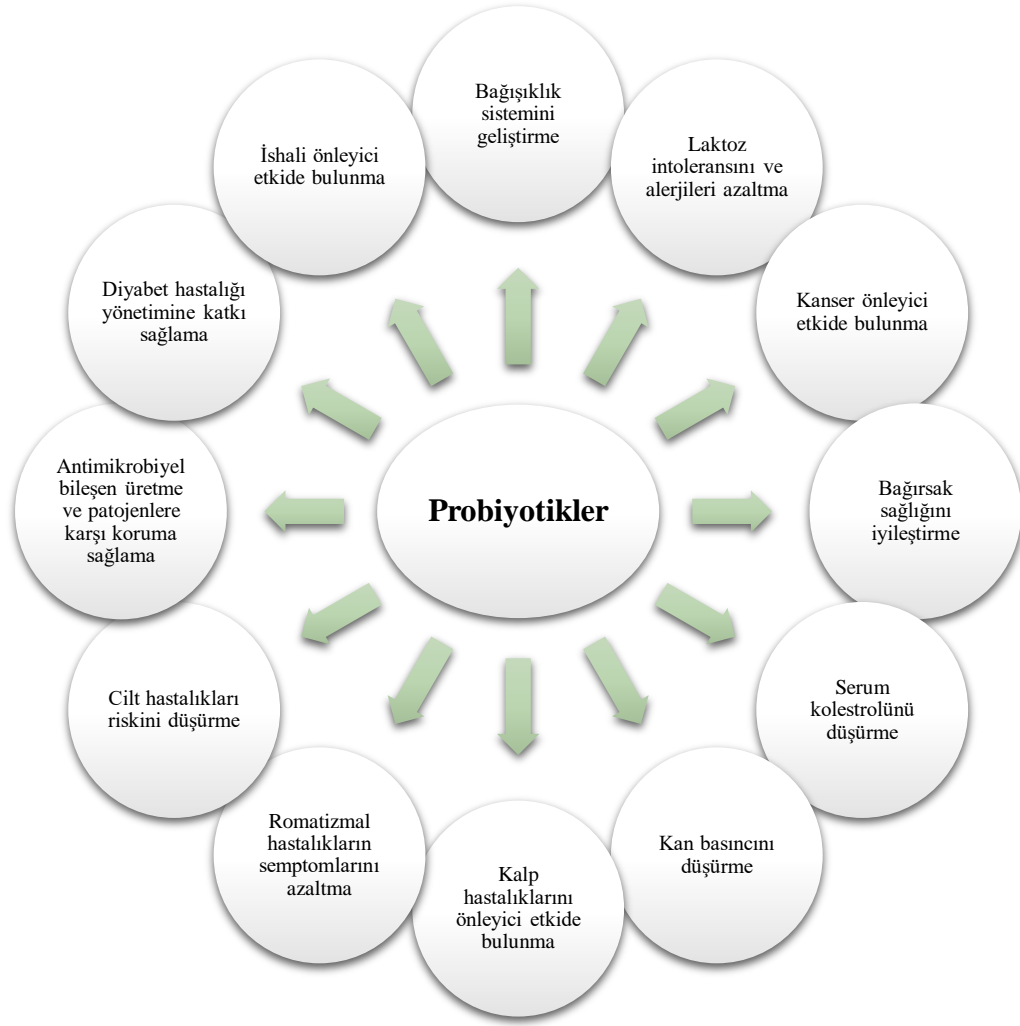
Probiyotikler üzerine inaktive edici etkiye neden olabilecek etmenlerden biri de ince bağırsaktan salgılanan safra tuzlarıdır. Safra, inorganik ve organik bileşiklerin karışımından oluşan bir salgıdır. %60 oranında kolik asit, kenodeoksikolik asit, deoksikolik asit gibi safra asitleri oluşmaktadır. Geri kalan kısım fosfolipitler, kolesterol, lipovitaminler, immünoglobulinler, su ve elektrolitlerden oluşmaktadır. Safra asitlerinin taurin ve glisin aminoasitleri ile konjugasyonu sonucunda safra tuzları oluşmaktadır. İnce bağırsakta bulunan safra tuzları, hücre zarına zarar vererek, osmotik basınç değişimleri ve düşük pH nedeniyle DNA hasarına yol açarak veya proteinlerin yanlış katlanmasına neden olarak antimikrobiyel etki göstermektedir. Bu sebeple seçilecek olan probiyotik

mikroorganizmanın safra tuzlarına karşı dayanıklı olması önemli bir faktör haline gelmektedir (Olejnik ve ark. 2005, Sanchez ve ark. 2007, Amund 2016).

Bir insanın genomundan yaklaşık 150 kat fazla gen taşıyan bağırsak mikrobiyotası, vücuttaki en önemli organlardan biri haline gelmektedir. Bağırsaklar, vücuttaki metabolik gelişimlerin düzenlenmesi, epitel hücrelerin gelişiminin artırılması, doğuştan gelen bağışıklık özelliklerinin desteklenmesi gibi bir çok biyolojik süreçte yer almaktadır. Yapılan çalışmalarda iltihabi bağırsak hastalığı (IBD), şeker hastalığı, damar sertleşmesi, alkolik karaciğer hastalığı (ALD), alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), siroz, bazı kanser türleri ve metabolik sendromlar gibi hastalıkların insanların bağırsak mikrobiyotalarıyla ilişkili olduğu söylenmektedir (Ley ve ark. 2006, O'Hara ve Shanahan 2006, Wang ve ark. 2016, Wang ve ark. 2017a).

Vücutta meydana gelen, stres kaynaklı veya bakteriyel kontaminasyon kaynaklı etkilerin azaltılmasında etkili olan probiyotikler, vücutta istenmeyen mikroorganizmalar olan patojen bakterilerin neden olduğu hastalıkların önlenmesine yardımcı olmakta, antibiyotik kaynaklı diyarenin etkilerinin azaltılmasını sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar probiyotik kullanımının şeker hastalığının düzenlenmesinde, kemik erimesinin tedavisinde, alerji semptomlarının azaltılmasında, laktoz intoleransının semptomlarının hafifletilmesinde ve kan basıncının düzenlenmesinde destekleyici etkilerinin olduğunu göstermektedir. Şekil 2.3.'te probiyotiklerin insan sağlığı üzerine olan etkileri gösterilmektedir (Mattila-Sandholm ve ark. 2002, Plessas ve ark. 2012, Baquerizo-Nole ve ark. 2014, McFarland ve Goh 2018).

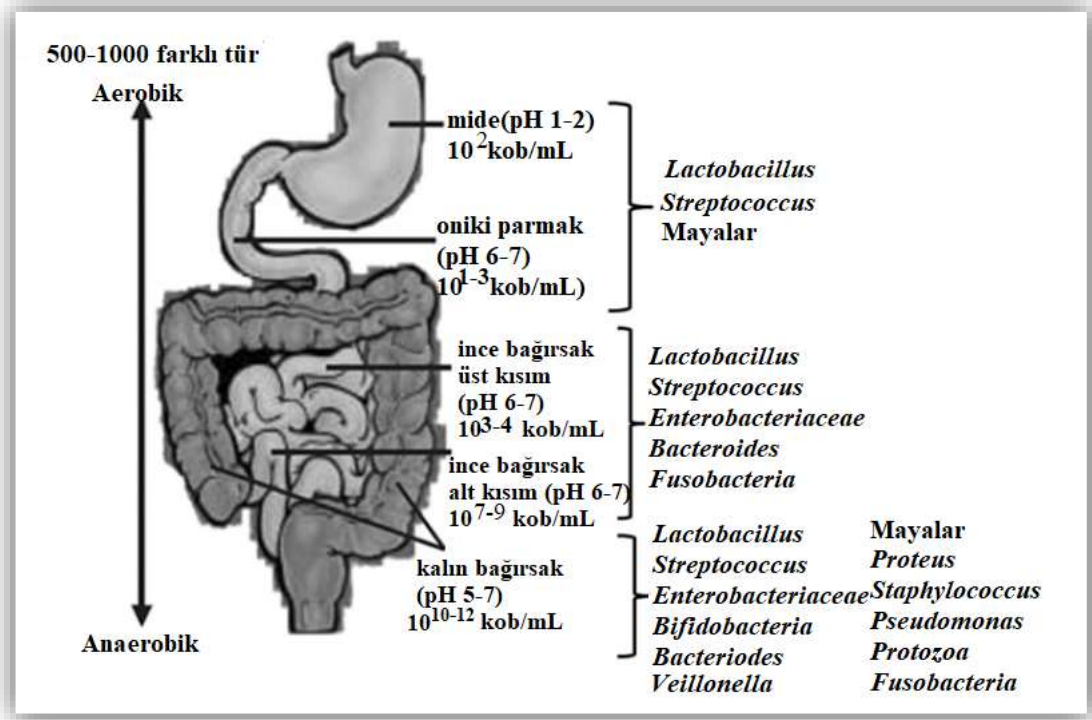
İnsan sağlığına yararlı etkileri olan, çoğunluğunu laktik asit bakterileri (LAB)'nin oluşturduğu probiyotik mikroorganizmalar, genellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerine ait olan mikroorganizmalardır. Laktik asit bakterileri, Amerika Sağlık Bakanlığı bünyesinde bulunan Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından GRAS (genellikle güvenilir olarak tanınan) kategorisinde tanımlanmaktadır. LAB türleri gram pozitif, çubuk şekilli, spor oluşturmeyen, hareketsiz, fakültatif anerob bakterilerdir (Arora ve Baldi 2017, Pimentel 2017).



Şekil 2.3. Probiyotiklerin insan sağlığı üzerine yararlı etkileri

Lactobacillus türleri asitliği yüksek olan mide ortamında daha fazla gelişmekte ve etkin koruma sağlamakta iken, *Bifidobacterium* türleri mide-bağırsak kanalında ve bağırsaklarda daha fazla gelişmekte ve karbonhidratların sindirimine fayda sağlamaktadır. *Saccharomyces*, *Streptococcus* ve *Lactococcus* gibi türler de probiyotik olarak kullanılan diğer mikroorganizmalardır (Rabiu ve Gibson 2002, Maragkoudakis ve ark. 2006).

Sağlıklı bir bireyin mide-bağırsak sisteminde bulunan mikroorganizmalar ve miktarları Şekil 2.4.'te görülmektedir (Govender ve ark. 2014).



Şekil 2.4. Sağlıklı bir bireyin mide-bağırsak sistemindeki mikrobiyel çeşitlilik

Laktik asit bakterileri ailesinin temel üyesi olan *Lactobacillus* türleri, insan mukozasının en iyi bilinen probiyotik bakteri türlerindedir. Bağışıklık sistemindeki özelliklerine, moleküler, biyokimyasal ve ekolojik farklılıklarına göre 180'den fazla türe sahip olan bu bakterilerden bazıları; *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. crispatus*, *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*'dur. İnsan vücudunda sindirim sistemi, boşaltım sistemi ve üreme sisteminde bulunan *Lactobacillus* türleri şekerlerin fermantasyon yoluyla laktik asite dönüştürülmesini sağlamaktadırlar. *Lactobacillus* türlerinin morfolojik görüntüsü Şekil 2.5.'te gösterilmektedir (Yang ve ark. 2018, Gaspar ve ark. 2019, Kuczkowska ve ark. 2019).

2008 yılında Uluslararası Sistematik Bakteriyoloji Komitesi Adli Komisyonu tarafından *L. casei*, *L. paracasei* ve *L. rhamnosus*'un genetik ve taksonomik özellikler açısından benzer oldukları sonucuna varılmış ve bunların *Lactobacillus casei* grubu (LCG) bakteriler olarak isimlendirilmesine karar verilmiştir (Tindall 2008, Huang ve Huang 2018).

L. casei bakterisindeki ‘casei’, ‘caseification; peynirleştirme’ kelimesinden gelmektedir. Lactobacillaceae familyasına ait olan bu bakteri, gram pozitif, hareketsiz, spor oluşturmeyan, çubuk şekilli, asidik ortam koşullarına toleranslı bir bakteridir. 15 ile 45°C arasında gelişebilme yeteneklerine sahip olan *L. casei*, süt ürünlerinden, sebzelerden ve bitkisel fermente ürünlerden, insan ve hayvanların sindirim sistemlerinden, anne sütünden, çeşitli canlılar için yaşam kaynağı olan topraklardan ve su kaynaklarından elde edilmektedir (Aydın 2000, Amin ve ark. 2009, Longdet ve ark. 2011, Sömer ve ark. 2012).

Endüstriyel alanda sağlık alanındaki faydaları dolayısıyla en çok çalışılan bakterilerden biri olan *L. casei*, fermente süt ürünleri, peynir dondurma gibi bir çok üründe aromayı iyileştirmek ve tekstürel özellikleri güçlendirmek adına kullanılmaktadır. Laktoz intoleransına sahip hastalarda semptomları azalttığı, bağırsak hareketlerini düzenlediği ve bağışıklık sistemini geliştirdiği için probiyotik olarak sınıflandırılmaktadır (Balthazar ve ark. 2018, Hill ve ark. 2018, Garcia ve ark. 2019).

Bağırsak mikroflorasındaki en önemli bakterilerden olan *Bifidobacterium* türleri patojen ve çürükçül bakterilere karşı aktif rol oynamalarından dolayı probiyotik bakterilere dahil edilmektedirler. İnsanların bağırsak sağlığı için oldukça önemli olan *Bifidobacterium* türlerinin filogenetik ve fizyolojik durumları hakkında sınırlı bilgiler bulunmaktadır. *Bifidobacterium* cinsine ait olan bu bakteriler, gram pozitif, spor oluşturmeyan, gaz oluşturmeyan, anaerobik, katalaz negatif (*Bifidobacterium indicum* ve *Bifidobacterium asteroides* hariç) özelliktedirler. İlk olarak 1990 yılında Tissier tarafından yeni doğmuş süt emen bir bebeğin dışkılarından izole edilen bu tür, *Bacillus bifidus* olarak adlandırılmıştır. Bu isimlendirmedeki ‘bifid’, ‘iki parçaya bölünmüş’ anlamına gelmektedir ve bu bakteriler morfolojik olarak Y veya V şeklinde bulunmaktadır *Bifidobacterium* türlerinin morfolojik görüntüsü Şekil 2.5.’te gösterilmektedir (Ventura ve ark. 2004, Ferdousi ve ark. 2013).



Şekil 2.5. *Lactobacillus* (a) ve *Bifidobacterium* (b) türlerinin morfolojik yapısı

Moleküler tekniklerdeki gelişmeler ile birlikte bakteriyel taksonomi alanında önemli değişiklikler meydana gelmiştir. Birçok bakteri türünün doğru tanımlanması, modern taksonominin temel taşı olarak kabul edilen 16S rRNA genini esas alarak gerçekleştirilebilmektedir. *Bifidobacterium* cinsine ait olan türler 16S rDNA dizileri arasında %93'ün üzerinde özdeşlik gösteren, uyumlu bir filogenetik birim oluşturmaktadırlar, Şekil 2.6.'da bu türler gösterilmektedir (Masco ve ark. 2004, Ventura ve ark. 2004).

Geçmişte iki ayrı tür olarak düşünülen *Bifidobacterium animalis* ve *Bifidobacterium lactis*'in, yapılan araştırmalar sonucunda aynı türün alt türlerini oluşturduğu bulunmuştur. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* bakterisi, aynı cins içindeki diğer türler ile karşılaştırıldığında asit ve oksijeni daha çok tolere edebildiği için, gıda ürünlerinde ticari olarak kullanımının daha fazla olduğu çalışmalarda belirtilmiştir (Matsumoto ve ark. 2004, Simpson ve ark. 2005, Lomonaco ve ark. 2015).

Yapılan araştırmalar, *B. animalis* subsp. *lactis* bakterisinin bünyesinde bulunan endopeptidazlar sayesinde peptid bağlarını hidrolize etmede katalizör görevi gördüğünü ve süt ürünlerindeki proteinleri kullanma yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir. Bu mikroorganizma aynı zamanda epitel dokuyu oluşturan mukus sıvısına yapışmakta ve bağırsaktan geçişte hayatta kalmaktadır (Matsumoto 2002, Janer ve ark. 2005).

kolesterol seviyesini düşürme gibi bir çok aktif rol oynamaktadır (Patil 2013, Karaman ve Özcan 2018).

İnülin, fruktooligosakkaritler, laktuloz, diyet lifi ve gamlar gibi gıda yardımcı maddeleri olarak kullanılan prebiyotiklerin çoğu bitkilerden elde edilmektedir. Enginar, kara hindiba, sarımsak, soğan, kuşkonmaz, pırasa, ıspanak, domates, tatlı patates gibi sebzeler, muz, dut gibi meyveler, buğday, arpa, yulaf gibi tahıllar, mercimek, nohut, kuru fasulye, börülce gibi baklagiller doğal olarak prebiyotik bileşenler içermektedir. Normal şartlarda bu gıdalardaki prebiyotik bileşenlerin seviyesi düşük olduğu için ticari olarak ekstrakte edilmekte ve sonrasında gıdaların bileşimine katılmaktadır (Jackson 2010, Moongngarm ve ark. 2011, Ozcan ve ark. 2016, Bosnea ve ark. 2017).

Bir bileşenin prebiyotik olarak adlandırılması için aşağıdaki kriterleri sağlaması gerekmektedir;

- i. Bitkilerin tüketilebilen kısımlarından elde edilmeli,
- ii. Oligosakkarit/polisakkarit karışımından oluşan bir karbonhidrat grubu içermeli,
- iii. Midedeki yüksek asitliğe ve sindirim enzimlerine dirençli olmalı,
- iv. Mide-bağırsak sisteminin üst kısımlarında sindirilmeden geçebilmeli,
- v. Konakçı tarafından metabolize edilmeli ve fermantasyonla yararlı etkileri ortaya çıkarılmalı,
- vi. Bağırsak mikrobiyotasındaki sağlıklı bakterilerin ve probiyotiklerin aktivitesini seçici olarak arttırmalı (Seifert ve Watzl 2007, Mohanty ve ark. 2018).

Özellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri başta olmak üzere kolondaki yararlı bakterilerin sayısını arttıran prebiyotik lif inülin, bakterilerin metabolizmasını uyararak gelişimlerini arttırmakta, bağırsaktaki mikrobiyel dengenin sağlanmasına yardımcı olmakta ve fonksiyonel gıdaların üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. İnce bağırsakta sindirelemeyen ancak kolonda laktik asit bakterileri tarafından fermente edilebilen inülin, kalsiyum, magnezyum, demir gibi minerallerin emilimini arttırmakta, serum ve kolesterol seviyesini düşürmektedir. İnülin gıdalarda diyet lifi olarak, yağ ve şeker ikamesi olarak, tekstür geliştirici olarak kullanılmaktadır. *In vitro* ve *in vivo*

koşullarda prebiyotik etkisi kanıtlanmış olan bileşiklerden biridir (Bosscher ve ark. 2006, Shoaib ve ark. 2016, Özcan ve ark. 2018, Iraporda ve ark. 2019).

Prebiyotik bileşenlerin etkisinin belirlenmesi için ölçülen ve/veya karşılaştırılan özellikler;

- i. **Özümseme oranı:** Belirli bir süre sonunda bakterilerin fermantasyonu sonucu kolonda kalan substrat konsantrasyonu,
- ii. **Bakteriyel popülasyonda değişim:** Bakterilerin fermantasyon sürecinde gösterdikleri gelişim,
- iii. **Prebiyotik aktivite sayısı (PAS):** Mikroorganizmanın gelişimini destekleyen substratın diğer mikroorganizmalara etkisinin ve glikoz gibi prebiyotik olmayan substrattaki gelişiminin logaritmik konsantrasyonunun karşılaştırılması
- iv. **KZYA üretimi** gibi belirleyici parametrelerle açıklanmaktadır (Usta ve ark. 2015).

Sinbiyotik terimi; yeterli miktarda tüketildiğinde konakçının sağlığı üzerine olumlu etkileri olan probiyotik mikroorganizmaların ve yeterli miktarda tüketildiğinde sindirim sistemindeki mikroorganizmaların aktivitesini seçici olarak uyaran, mide-bağırsak sisteminde sindirilmeden kolona ulaşan, burada fermente olan ve konakçı sağlığına yarar sağlayan prebiyotiklerin kombine şekilde bir arada kullanımları anlamına gelmektedir. Sinbiyotikler sayesinde probiyotik mikroorganizmaların ve prebiyotiklerin ayrı ayrı etkilerinin, birlikte kullanımları ile artırılması sağlanmaktadır (Kumar ve ark. 2016, Moumita ve ark. 2017).

İnce bağırsaktan ve mideden hidrolize edilmeden geçen prebiyotikler, probiyotik mikroorganizmalarla kombinasyon şeklinde kullanıldıklarında, probiyotikler için mide-bağırsak kanalında koruyucu görev üstlenmekte ve probiyotiklerin gelişimlerinin artmasını sağlamaktadır (Bandyopadhyay ve Mandal 2014, Cremon ve ark. 2018).

Postbiyotikler, konakçı hücreye doğrudan veya dolaylı bir şekilde yarar sağlayabilen, probiyotikler tarafından üretilen yan ürünler veya metabolik aktiviteyi artırıcı faktörler olarak tanımlanmaktadır. Bu tanımın içine, organik asitler, KZYA'lar, vitaminler, hücre

içi ve hücre dışı polisakkaritler, enzimler, bakteriyosinler ve hücre duvarı bileşenleri dahil olmaktadır (Tsilingri ve Rescigno 2013, Malashree ve ark. 2019).

Prebiyotiklerin bağırsaklar üzerindeki yararlı etkileri, direkt olarak laktik asit bakterilerinin bağırsaklardaki immün sistem hücreleriyle doğrudan temas etmesiyle veya diyet liflerinin fermantasyonu sonucunda oluşan asetik asit, bütirik asit, propiyonik asit gibi KZYA oluşumuyla ortaya çıkmaktadır (Schley ve Field 2002, Lomax ve Calder 2009).

Yapılan çalışmalarda KZYA miktarlarındaki artışın obezite ve insülin direnci üzerinde olumlu etkileri olduğu görülmektedir. KZYA'den asetik asit, kolesterol mekanizmasında ve lipitlerin parçalanmasında kullanılan, yararlı bakterilerin gelişimini teşvik eden bir metabolittir. Propiyonik asit, bağırsaklardaki yağ asiti reseptörleriyle iletişime geçerek doyumluk sinyalinin gönderilmesini ve hücrenin glikoz ihtiyacının düzenlenmesini sağlamaktadır. Bütirik asit ise glikozun yıkımı için etkili olmakta, bağırsaklardaki oksijen dengesini korumakta, bağırsak mikrobiyotasında meydana çıkan bozulmaların önlenip dengelenmesine yardımcı olmakta, kolon kanseri hücrelerinin apoptozunu sağlamaktadır (Lin ve ark. 2012, Frost ve ark. 2014, Byndloss ve ark. 2017, Valdes ve ark. 2018, Zhao ve ark. 2018).

Laktik asit bakterilerinin süt ürünlerini fermente etmesi sonucunda, bakteriyosinler, vitaminler, biyoaktif peptidler, ekzopolisakkaritler, nörotransmitter maddeler gibi insan sağlığı ve bağışıklık sistemi üzerine olumlu etkileri olan biyoaktif bileşikler sentezlenmektedir (Linares ve ark. 2017, Neilson ve ark. 2017).

Patel ve ark. (2013) *Bifidobacterium animalis* Bb12 suşunu kullandıkları çalışmalarında fermente süt ürünlerinde amino asit, nükleik asit, yağ asitleri ve karbonhidrat metabolizması için elzem olan kobalamin (B₁₂) vitamininin miktarının arttığını belirtmişlerdir.

Drywien ve ark. (2015) *Lactobacillus casei* KNE-1 probiyotik kültürünü kullanarak yaptıkları çalışmada, ürettikleri muzlu fermente süt ieinde tiamin (B₁) ve rivo flavin (B₂) vitaminlerin miktarlarının arttığını göstermişlerdir.

Dertli ve ark. (2016) doğal bir polisakkarit olan ekzopolisakkarit üretme yeteneğine sahip olan *Streptococcus thermophilus* FD-DVSST-BODY3 kültürünü kullanarak üretmiş oldukları fermente dondurmada teknolojik ve reolojik özellikler açısından ekstra stabilizatör kullanımına gerek duyulmadan istenen özelliklerin yakalanabileceğini belirtmişlerdir.

2.2. Baklagiller

Son yıllarda değişen beslenme düzeniyle beraber soya fasulyesi ve türevleri gibi yüksek protein içerikli bitkisel besin kaynaklarına yönelim giderek artmaktadır. Bu artış, alternatif bitkisel kaynakların üretilmesini zorunlu hale getirmektedir. Tane baklagiller, hayvancılıkla beraber artan bitkisel protein ihtiyacını karşılamakta ve yabani otlarla, haşerelerle, hastalıklarla, sera gazı emisyonuyla, çevresel ve insani boyuttaki tehlikelerle mücadele edilmesine yardımcı olmaktadır (Renna ve ark. 2011, Pasiakos ve ark. 2015).

Soya fasulyesi ve yer fıstığı gibi yüksek yağ oranına sahip olan baklagillerin aksine bezelye, fasulye, nohut ve mercimek gibi baklagiller, düşük yağ oranına sahiptirler ve tropikal iklimlerde tahıllardan sonra en önemli ikincil protein kaynağı olarak kullanılmaktadırlar (Nemecek ve ark. 2008).

Türkiye Toprak Mahsülleri Ofisi (TMO) verilerine göre yemeklik tane baklagiller, dünya nüfusunun yaklaşık %25'i için protein kaynağı durumundadır. Dünya genelinde insanların beslenme düzeninde, protein içeriğinin %22'si, karbonhidrat içeriğinin %7'si yemeklik tane baklagillerden sağlanırken, hayvanların beslenme düzeninde protein içeriğinin %38'i, karbonhidrat içeriğinin ise %5'i yemeklik tane baklagillerden sağlanmaktadır. Baklagiller genel olarak dünya genelinde üretilmektedir ancak bazı çeşit baklagillerin yoğun olarak buldukları coğrafyaların dağılımı değişmektedir. Örneğin; bezelye Avrupa ve Amerika lkelerinde, kuru fasulye Asya ve Amerika lkelerinde, maş

fasulyesi Asya ülkelerinde, börülce ise Afrika ülkelerinde yoğunlukla üretilmektedir (Keatinge ve ark. 2011, Anonim 2018).

Yapılan araştırmalar sırasında baklagillerin literatürlerde ‘pulses’ ve ‘legumes’ olarak her iki şekilde de geçtiği görölmektedir. Adebo ve ark. (2017)’nın belirttiğine göre, ‘pulses’ terimi genellikle kuru halde hasat edilen tohumlar için kullanılırken, ‘legumes’ terimi daha genel anlamda bütün baklagiller için kullanılmaktadır. Gıda Standartları Komisyonu (CAC)’nın ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)’nün tanımlamalarında da bu ayrım, kurutulmuş tohum baklagilleri ve baklagil bitkileri olarak belirtilmektedir.

Dünya genelinde tüketilmekte olan baklagiller, fazla sayıda çeşide ve isme sahiptir, bunlardan 11 tanesi FAO tarafından tanınmaktadır. Bu çeşitler arasında yer alan bezelye, kuru fasulye, maş fasulyesi ve börülce baklagilleri için yapılan isimlendirmeler Çizelge 2.1.’de belirtilmektedir (Adebo ve ark. 2017).

Bitkisel proteinler, sistein ve metiyonin gibi sülfür içeren amino asitler bakımından hayvasal proteinlere kıyasla daha düşük biyolojik değere sahiptirler. Ancak yemeklik tane baklagiller, lizin, lösin, izölösin, fenilalanin gibi esansiyel amino asitler açısından önemli kaynaklar olarak görölmektedirler (Boye ve ark. 2010, Millar ve ark. 2019).

Vitamin ve mineraller açısından da zengin olan baklagiller özellikle demir, çinko, folat ve diğer B vitaminlerini içermektedir. Bu nedenle yeni gıda formülasyonlarının üretilmesinde ve mikro besinlerin vücuda alınmasında önemli bir besin grubu olarak görölmektedir (Campos-Vega ve ark. 2010, Beelen ve ark. 2017).

Baklagiller üzerinde yapılan çalışmalarda, baklagillerin diyet lifi açısından iyi bir kaynak olduğu, kalın bağırsakta fermente edilebildiği ve asetik asit, bütirik asit, propiyonik asit gibi kısa zincirli yağ asitleri üretimini gerçekleştirdiği belirtilmektedir. KZYA’lardan bütirik asit, hücrelerin farklılaşmasını engelleyerek bağırsaklarda tümör oluşması riskini azaltmakta, propiyonik asit ise redüktaz enzimini inhibe ederek kolesterol yükselmesinin önlenmesine yardımcı olmaktadır (Feng ve ark. 2018, Kerry ve ark. 2018).

Çizelge 2.1. Bezelye, kuru fasulye, maş fasulyesi ve börülce için Dünya genelinde kullanılan isimler

Örnek	Ortak isim	Yerel isim	Botanik isim
Bezelye	Dry peas	Pea, Green pea, Garden pea	<i>Pisum sativum</i>
Kuru fasulye	Dry beans	White kidney bean, Navy bean, Haricot bean, Dry bean	<i>Phaseolus vulgaris</i>
Maş fasulyesi	Dry beans	Mung bean, Green gram, Golden gram	<i>Vigna radiata</i>
Börülce	Dry cowpea	Cowpea, Black-eyed pea	<i>Vigna unguiculata</i>

Vücut sağlığı için çok faydalı olan baklagil diyet lifleri, safra tuzlarına bağlanmakta ve karaciğerdeki emilimi azaltarak kolesterol üzerine olumlu etkiler göstermektedir. Lifli ve viskoz yapılarıyla, kandaki glikoz salınımını kontrol etmekte, diyabet ve obezite tedavisine yardımcı olmaktadır. Yüksek diyet lifi içeriğine yani düşük glisemik indekse sahip bu gıdalar, yemeklerden sonra kan şekeri ve insülin arasındaki dengenin sağlanmasına yardımcı olmakta, şeker hastalarında genel kan şekeri ve lipid konsantrasyonlarını iyileştirmektedir (Trinidad ve ark. 2010, Valdes ve ark. 2018).

2016 yılının Dünya Bakliyat Yılı ilan edilmesiyle beraber, baklagiller üzerine yapılacak olan inovatif çalışmalarda artış beklenmektedir. Dünya çapında giderek büyüyen nüfus artışı ve değişen beslenme düzenleri, sürdürülebilir gıda üretimi konusunda yenilikçi fikirler ortaya çıkarılmasını ve baklagil kaynaklı bileşenlerin fonksiyonel gıdalarda kullanımını teşvik etmektedir (Aiking 2011, Beelen ve ark. 2017).

Hammaddelerin un formunda kullanılması, hasat sonrası kayıpların önlenmesine, ürünün raf ömrünün ve ticari değerinin artırılmasına yardımcı olmaktadır. Fonksiyonel ve teknolojik özelliklerin artırılması amacıyla makarna, ekmek, bisküvi ve atıştırmalıklar gibi gıdaların yapımında tercih edilen unların, süt ürünleri gibi başka gıda kategorilerinde de kullanımı mümkündür. Potansiyel prebiyotik özellik gösteren unların, probiyotik süt ürünleri üretiminde kullanımının mikroorganizma gelişimlerini ve ürünün genel bileşimlerini arttırmak için uygun alternatifler olduğu düşünülmektedir (Ozcan ve ark. 2016, Silva ve ark. 2016, Santos ve ark. 2017).

2.2.1. Bezelye (*Pisum sativum* L.)

Bezelye (*Pisum sativum* L.), bünyesinde 800'den fazla cins ve 18,000'den fazla tür barındıran Leguminosae/Fabaceae ailesinin en büyük alt türü olan Papilionoideae'nin, *Pisum* cinsine ait bir baklagildir (Şekil 2.7). Ortalama 5 ile 9 santimetre uzunluğunda bir dış kabuk ve onun içerisindeki tohumlardan meydana gelmektedir. Arkeolojik kalıntılar bezelyenin geçmişinin M.Ö. 10000'li yıllara kadar dayandığını desteklemektedir. Bezelye üretiminde dünya genelinde en uygun koşullara ve %25 ile en yüksek üretim oranına sahip olan ülke Kanada'dır. Bezelyenin insan beslenmesinde kullanım oranı en yüksek olan ülkeler ise Asya ve Kuzey Amerika ülkeleridir. Dünya ticaretinde baskın bir ürün olan bezelyenin, dünya üzerindeki ithalat ve ihracat oranı %35-40 civarındadır ve bütün baklagil ürünleri arasında oldukça yüksek orana sahip olduğu bilinmektedir. 2014 verilerine göre dünyada bezelye üretimi 11.3 milyon tondur (Chung ve Liu 2011, De Ron 2015, Senapati ve ark. 2019).

Türkiye'de, 2016 yılı Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre yıllık bezelye üretimi; 115 bin tonu insan beslenmesi için, 121 bin tonu hayvan beslenmesi için olmak üzere toplamda 236 bin tondur (Anonim 2016).



Şekil 2.7. Bezelye (*Pisum sativum* L.)

Bezelye, yüksek oranda sindirilebilir protein içermektedir. Ayrıca içerisinde bulundurduğu karbonhidratlar, kalsiyum ve fosfor gibi mineraller, vitaminler, diyet lifleri ve antioksidanlar gibi bileşenler ile beraber oldukça zengin ve besleyici bir besin grubunu oluşturmaktadır. Bu nedenle kurutma, dondurma gibi yöntemlerle veya konserve haline getirilerek, mevsimi olmadığı zamanlarda da sıklıkla tercih edilmektedir (Bhuita ve Saurabh 2017).

Soya fasulyesi protein fraksiyonuna kıyasla bezelye proteinleri, metiyonin ve sistein amino asitleri açısından düşük olmasına rağmen, lizin, aspartik asit ve glutamik asit açısından daha zengindir ve yeni alternatif protein kaynakları olarak görülmektedir (Hejdzys ve ark. 2017, Konieczka ve ark. 2018). Yeşil bezelye unu ve sarı bezelye ununa ait amino asit kompozisyonları Çizelge 2.2.'de verilmektedir (Millar ve ark. 2019).

Dünyanın her bölgesinde rahatlıkla yetiştirilen bezelye, tarlalarda her dönem farklı ürünlerin yetiştirilmesi amacıyla yapılan çalışmalar için de oldukça verimli bir üründür. Yüksek protein ve enerji kaynağı olan bezelye baklagili, glutensiz ekmek çeşitleri, ekstrüde atıştırmalıklar, makarna, işlenmiş sürülebilir peynir ve probiyotik ürünlerde diyet lifi katkısı olarak kullanılmaktadır (Nilüfer-Erdil 2016, Akin ve Ozcan 2017)

Bezelyenin de dahil olduğu yemeklik tane baklagiller, yüksek oranda sindirime dirençli lifler ve nişasta içermektedirler. Tüketilmeleriyle beraber kandaki glikoz seviyesinin hızlıca yükselmesini önlemekte ve düşük glisemik indeksli gıdalar arasında sayılmaktadırlar. Bezelyenin sindirilebilirliğinin yavaş olması; yüksek viskoz çözünür

diyet lifi içeriğine, içerisindeki çeşitli bileşenlerin varlığına ve nişastadaki nispeten yüksek amiloz içeriğine bağlanmaktadır (Chung ve Liu 2011).

Çizelge 2.2. Yeşil bezelye ununa ve sarı bezelye ununa ait amino asit bileşimleri

	Yeşil bezelye unu mg/g protein	Sarı bezelye unu mg/g protein	Önerilen doz* günlük mg/kg
Esansiyel amino asitler			
Histidin	35	25	20
İzolösin	35	38	20
Lösin	70	77	39
Lisin	63	70	30
Metiyonin	11	12	10
Fenilalanin	38	49	25
Treonin	37	40	15
Valin	39	49	26
Esansiyel olmayan amino asitler			
Alanin	41	43	-
Arjinin	74	79	-
Aspartik asit	109	114	-
Sisteik asit	12	16	-
Sistein	12	14	-
Glutamik asit	147	166	-
Glisin	37	42	-
Serin	43	47	-
Taurin	31	21	-
Tirozin	21	30	-

*WHO/FAO/UNU, 2007 Raporu

Bezelye ve kuru fasulye gibi baklagillerin yağ içeriklerinin (~% 2), nohut (~% 7) ve soya fasulyesi (~%20) gibi baklagillerin yağ içeriklerine oranla daha düşük olduğu bilinmektedir. Yüksek yağ içeriğine sahip olan baklagil türlerinin gıdalarda kullanımı sırasında yağ asitlerinin uçucu bileşiklere oksidasyonu ile aroma ve raf ömründe istenmeyen değişikliklere neden olduğu belirtilmektedir, bu sebeple düşük yağ oranına sahip olan baklagillerin, gıdaların besinsel olarak takviye edilmesinde kullanımına daha uygun olduğu söylenebilmektedir (Guichard 2002, De Almeida Costa ve ark. 2006, Day 2013).

Yüksek verim ile elde edilebilme, uygun maliyetli üretim, yüksek besin değerine sahip olma gibi özellikleri nedeni ile bezelye, yeni gıda formülasyonlarına kolaylıkla dahil edilebilmektedir. Ancak hammaddenin toplanması, parçalanması, ürüne dahil edilmesi aşamalarında tüketici tarafından arzu edilmeyen baklagilimsi aromalar meydana gelebilmektedir. Dünyanın en eski muhafaza tekniklerinden biri olan fermantasyon ile bezelyede istenmeyen tat bileşenleri baskılanabilmekte, gıdaların duyu kalitesi arttırılmakta, besinlerin toksik etkileri azaltılmakta, antioksidatif ve antimikrobiyel bileşikler üretilmektedir (Steinkraus 2002, Murat ve ark. 2013, Tamang ve ark. 2016).

Meinlschmidt ve ark. (2016) soya protein izolatı ve *Lactobacillus helveticus* laktik asit bakterisi kullanarak yapmış oldukları çalışmada, fermantasyonun istenmeyen baklagilimsi ve acımsı tatları azalttığını belirtmişlerdir.

Chung ve Liu (2011) yaptıkları araştırmada, üç farklı bezelye çeşidinden elde edilen unların ve izole edilen nişastaların fizikokimyasal özelliklerini ve *in vitro* sindirilebilirliklerini karşılaştırmışlardır. Bezelyelerden elde edilen nişastaların fizikokimyasal özelliklerinin daha önceki çalışmalarda incelendiğini ancak nişasta türlerinin (hızlı sindirilebilir nişasta, yavaş sindirilebilir nişasta, dirençli nişasta) tamamı ve glisemik indeks hakkında *in vitro* boyutta yapılan çalışmalarda eksiklikler olduğunu, bezelye nişastasındaki yüksek amiloz içeriğinin ve jelleşme kapasitesinin, düşük sindirilebilirlik ve düşük glisemik indeks ile doğru orantılı olduğunu belirtmişlerdir. Bezelye nişastalarının hidrolize etme yeteneklerinin, bezelye unlarından fazla olduğu açıklanmıştır. Daha yüksek dirençli nişasta miktarının; daha yüksek protein miktarı, daha yüksek amiloz miktarı, daha yüksek jelatinizasyon sıcaklığı ve amiloz-yağ kompleksi için daha yüksek erime entalpisi gibi bir çok faktörle ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Parra ve ark. (2012) *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus casei* kültürleri ile yaptıkları çalışmada, Orta Amerika'da ve Afrika'da yaygın olarak tüketilen güvercin bezelyesini (*Cajanus cajan* L. Millsp) kullanarak, fermente baklagil ürünü üretimi gerçekleştirmişler ve süt, muz, çilek gibi bileşenler ekleyerek bu bileşenlerin etkilerini saptamayı amaçlamışlardır. Üretimi takip eden 3, 7, 14, 21 ve 28. günlerde yapılan pH analizi, canlı mikroorganizma sayımı ve duyu analizler sonucunda; her iki suşun da

bezelye bazlı fermente süt üretimine uygun olduğu ve düşük maaliyetli protein kaynağı olabileceği belirtilmiştir. Hücre sayımına bakıldığında *L. acidophilus*'un süt içeren ortamda daha fazla geliştiği söylenirken, *L. casei*'nin gelişiminin bütün ortamlarda benzer olduğu belirtilmiştir. Depolama boyunca *L. acidophilus* pH üzerinde 0.34 ile 1.86 birimlik azalmaya neden olurken, *L. casei* 0.11 ile 0.98 birimlik düşüşe neden olmuş, elde edilen sonuçların daha önceki sonuçları doğruladığı ve *L. casei*'nin çok yüksek miktarda laktik asit üretemediği için pH üzerinde etkisinin daha yavaş olduğu belirtilmiştir. Yapılan duyuusal analizlerde süt içeren örnekler daha çok beğenilmiştir.

Zare ve ark. (2013), *Lactobacillus rhamnosus* (AD200) probiyotik bakterisini kullanarak yaptıkları çalışmada yağsız süt tozundan fermente içecek üretimi gerçekleştirilmiş, %1-3 bezelye unu ilavesi ve %1-3 yağsız süt tozu ilavesi yapılmış ürünlerde, fermantasyon süresi ve 28 günlük depolama süresi boyunca pH, serum ayrılması, renk değişimleri ve reolojik özellikler belirlenmiştir. % 3 oranında bezelye unu ile zenginleştirilmiş örneğin, fermantasyonu sonlandırma belirteci olan 4.5 pH'a en hızlı ulaşan örnek olduğu belirtilmiştir. Bezelye tozu ilave edilmiş örnekler ile yağsız süt tozu ilave edilmiş örnekler bakteri gelişimleri açısından karşılaştırıldığında, bezelye unu içeren örneklerin koloni sayılarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Depolama boyunca örneklerin koloni sayılarında azalma olmasına rağmen, 28 günün sonunda probiyotik fermente içecek için gerekli olan sayıda mikroorganizma (10^9 kob/100mL) içerdikleri belirlenmiştir. Bezelye unu ile takviye edilen örneklerde son üründe daha fazla sarılık olduğu belirtilmiş, daha az serum ayrılması dolayısıyla daha iyi bir jel yapısı olduğu söylenmiştir.

Millar ve ark. (2019), bakla unu, yeşil bezelye unu ve sarı bezelye unu üzerine yaptıkları çalışmada, baklagil unlarının tahıllarla zenginleştirilmiş gıdalara alternatif olarak kullanılabileceğini ve yüksek besin değerine sahip ürünler geliştirilebileceğini belirtmişlerdir. Araştırmada c baklagil ununun bileşimleri analiz edilmiş, içerisindeki mineral madde, amino asit, fitik asit ve fenolik madde bileşenlerinin miktarları tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda bakla unu 28 g/100 g ile protein içeriği açısından en yüksek değere sahipken, yeşil bezelye unu 15 g/100 g ile toplam diyet lifi içeriği açısından en yüksek değere sahip olduğu bulunmuştur. Her c unun formülasyonlarında yeterli

miktarda esansiyel amino asitin bulunduğu ve proteinlerle zenginleştirilmiş gıdaların üretiminde kullanıma uygun olduğu belirtilmiştir.

Ben-Harb ve ark. (2019), çeşitli peynirlerden ve bitkilerden elde edilen 55 adet bakteri suşu için bezelye proteinleri ile zenginleştirilmiş emülsiyonlarda araştırma yapmışlardır. Bu araştırmalar sonucunda; aroma ve duyu tat profilini, endojen mikroorganizmalara karşı rekabet etme yeteneklerini ve ayrıca %100 bezelye proteini içeren ve karbonhidrat kaynağı içermeyen ortamda ve %50 bezelye proteini: %50 süt içeren ortamda ilgili suşların büyüme yeteneklerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda bezelye ve süt emülsiyonlarının karışık halde bulunduğu ortamda hızlı şekilde pH düşüşü gerçekleşirken, sadece bezelye emülsiyonu içeren ortamda alkali ve nötr fermantasyon gerçekleştiği tespit edilmiştir. *Lactobacillus* türlerine ait olan değerlendirmede hem protein hem de protein:süt emülsiyonlarında iyi bir gelişim gözlemlenmiştir. Karışık emülsiyonun *Actinobacteria* ve *Proteobacteria* gelişimini inhibe ettiği görülmüştür. Ek olarak bezelye bazlı emülsiyonda gerçekleşen fermantasyon işleminin hekzanal oranını azaltarak, yeşil bezelye aromasının hissedilebilirliğini düşürdüğü söylenmiştir.

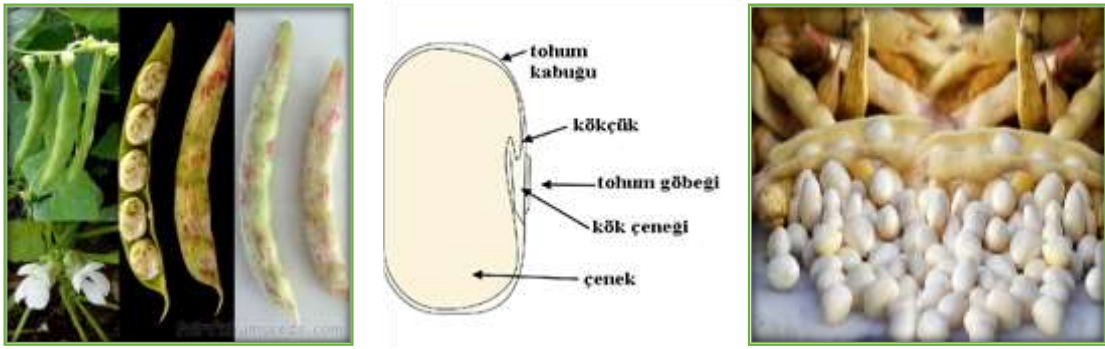
Akin ve Ozcan (2017), fermente süt içeceği ürettikleri bir çalışmada, 21 günlük depolama sürecinde kontrol grubu örnekleri bitkisel proteinli örnekler ile karşılaştırmış, bitkisel proteinlerin su tutma kapasitelerinin düşük olmasına bağlı olarak serum ayrılmasının yüksek çıktığını gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte bezelye protein izolatu ilave edilen örneklerde serum ayrılmasının diğer protein katkılı örneklere göre daha düşük olduğu belirtilmiştir.

2.2.2. Kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)

Kuru fasulye Leguminosae/ Fabaceae ailesinin *Phaseolus vulgaris* L. cinsine ait yemeklik bir tane baklagildir (Şekil 2.8). Dünyadaki ekim alanı ve üretim potansiyeli bakımından en önemli baklagillerden olan kuru fasulye, Doğu Afrika ve Latin Amerika' da sıklıkla tüketilmekte, demir, çinko, tiamin, folik asit gibi mikro besinlerin vücuda alınmasında önemli rol oynamaktadır (Petry ve ark. 2015, Anonim 2018).

FAO' nun 2016 yılı verilerine göre dünya genelinde ekim alanları kıyaslandığında %32,2 ile Hindistan ilk sıradadır, onu Myanmar ve Brezilya takip etmektedir. Türkiye'de ise Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre nohut ve bezelyeden sonra üçüncü sırada yer alan kuru fasulye, 2017 yılı itibariyle toplam baklagil ekim alanlarının %11'inde yetiştirilmektedir (Polat 2017, Anonim 2018).

Yüksek bir protein kaynağı olan kuru fasulye, çeşidine bağlı olarak %14 ile %33 arasında protein içermektedir. 90 gram kuru fasulye, yetişkin bir insanın günlük alması gereken protein ihtiyacının yaklaşık %15'ini karşılamaktadır. Lisin, fenilalanin ve tirozin amino asitleri açısından zengin olan kuru fasulye Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlenen minimum gereklilikleri karşılamaktadır (Chavez-Mendoza ve Sanchez 2017).



Şekil 2.8. Kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)

Kuru fasulyenin karbonhidrat içeriğinin %50'sinden fazlasını nişasta, geri kalan kısımlarını ise monosakkaritler ve oligosakkaritler oluşturmaktadır. Kuru fasulyedeki sindirilemeyen oligosakkaritler, dirençli nişasta, çözünen ve çözünmeyen diyet lifleri kalın bağırsağa ulaşarak fermente olmaktadır. Amerikan Hububat Kimyacıları Birliği (AACC) diyet lifini, 'ince bağırsakta sindirime ve emilime uğramayan, kalın bağırsakta kısmen veya tamamen sindirimeye uğrayabilen, tüketilebilir bitki kısımları' olarak tanımlamaktadır (Tosh ve Yada 2010, Chavez-Mendoza ve Sanchez 2017).

Fenolik bileşikler, tokoferoller, kalsiyum, demir, çinko gibi mineraller ve doymamış yağ asitleri içeren fasulye, tüketildiğinde vücuda biyolojik aktiviteler sağlamaktadır. Proteinler, oligosakkaritler, nişasta tohumun iç kısımlarında bulunurken, fenolik

bileşenler ve diyet lifi tohum kabuğunda daha yüksek oranda bulunmaktadır (Pedrosa ve ark. 2015, Hall ve ark. 2017, Los ve ark. 2018).

Yapılan çalışmalarda fasulye tüketiminin, metabolik ve kardiyovasküler hastalıkların görülme riskini düşürme, serum kolesterol seviyesi ve hiperglisemiye azaltma, kolon, meme ve prostat kanserinin önleme gibi yararlarının olduğu görülmektedir (Jenkins ve ark. 2012, Mojica ve ark. 2017, Reverri ve ark. 2017, Los ve ark. 2018).

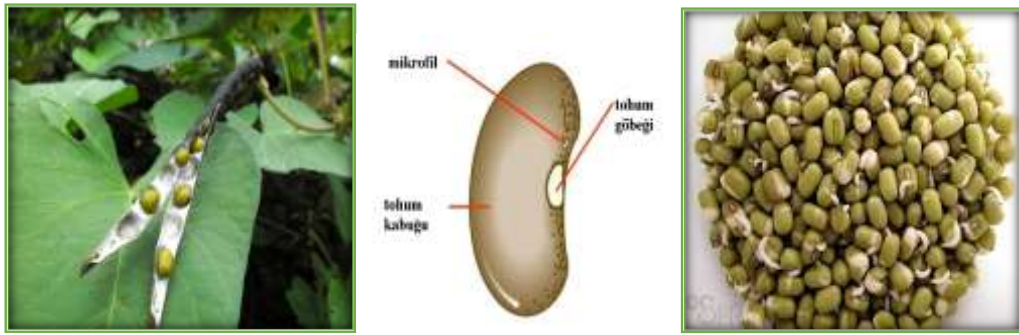
Yüksek besin içeriğine sahip fasulyenin fermentasyonu hakkında çok fazla çalışma yapılmamıştır ancak protein sindirilebilirliği, ürünün tekstür ve aroma özellikleri üzerine olumlu etkileri olduğu bilinmektedir (Bigliardia ve Galati 2013, Diana ve ark. 2014, Worku ve Sahu 2017).

Jayamanohar ve ark. (2019), meksika fasulyesi ekstraktı kullanarak yapmış oldukları çalışmada, meksika fasulyesinden ekstrakte edilen polisakkaritlerin, *in vitro* prebiyotik potansiyellerini, fermentasyon özelliklerini ve antibiyofilm oluşturma özelliklerini araştırmışlardır. Bu polisakkaritler standart fruktooligosakkaritler ile kıyaslandığında mide ve bağırsak sıvılarında daha az sindirilebilirlik göstermiştir. Aynı zamanda Meksika fasulyesi ilavesi *L. plantarum* ve *L. fermentum* probiyotik bakterilerinin gelişimlerini arttırmış, *Escherichia coli* kaynaklı biyofilm oluşumunu %79 oranında inhibe etmiştir.

Song ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada *Phaseolus vulgaris* ekstraktının obezite ile ilişkili metabolik sendromlara etkisini ve bağırsak mikrobiyotasıyla ilişkisini araştırmışlardır. Kuru fasulye ekstraktı ile takviye edilmiş diyet uygulanan farelerde vücut ağırlığının azaldığı ve insülin direncinin geliştiği görülmüştür. Bağırsak mikrobiyota gelişimi 16S rDNA dizilimi ile analiz edilmiş ve *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Akkermansia* probiyotik bakterilerinin canlılığında görece artış olduğu belirtilmiştir.

2.2.3. Maş fasulyesi (*Vigna radiata* L. Wilczek)

Maş fasulyesi Leguminosae/ Fabaceae ailesinin *Vigna radiata* L. Wilczek cinsine ait bir baklagildir (Şekil 2.9). Özellikle Hindistan, Güneydoğu ve Doğu Asya tarımında önemli yer tutmaktadır. Yüksek protein içeriği sebebiyle tahıl bazlı diyetlerde tamamlayıcı bileşenler olarak kullanılmaktadır. Dünya genelinde sıcak iklim koşullarında yetiştirilmeye uygun olan bu tane baklagil, çimlendirilmiş şekilde salatalara ilave edilerek tüketilmektedir (Lambrides ve Godwin 2007).



Şekil 2.9. Maş fasulyesi (*Vigna radiata* L. Wilczek)

Dünyadaki en az bilinen baklagillerden biri olmasına rağmen, içerdiği kaliteli protein oranıyla gelişmekte olan ülkeler için çok önemli bir besin haline gelmektedir. Lisin amino asiti içeriği bakımından yüksek olan maş fasulyesi aynı zamanda diyet lifi, vitamin ve mineraller açısından oldukça zengindir (Khalil 2006, Akaerue ve Onwuka 2010).

Maş fasulyesi protein izolatlarının içerdiği amino asit kompozisyonları ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından kılavuzda belirtilen miktarlar Çizelge 2.3.'te gösterilmektedir (FAO/WHO 1991, Kudre ve ark. 2013, Yi-Shen ve ark. 2018).

Maş fasulyesi proteinlerinin ve peptitlerinin, anjiyotensin dönüştürücü enzimi (ACE)'nin inhibe edici aktiviteye, antifungal ve antibakteriyel aktivitelere sahip olduğu önceki çalışmalarda belirtilmektedir. ACE inhibitörleri, kardiyovasküler hastalıkların

tedavisinde ve önlenmesinde yarar sağlayan enzim inhibitörleridir (Yüksel 2004, Yi-Shen ve ark. 2018).

Khalil (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, maş fasulyesinin antioksidan içeriğinin arttırılmasında, çimlenme ve fermantasyon işlemlerinin etkilerinin ölçülmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla; *L. casei*, *L. helveticus*, *L. reuteri* bakteri kültürleri kullanılmıştır. En yüksek protein artışı *L. casei* ile fermente edilmiş maş fasulyesi örneklerinde görülürken, en düşük protein artışı *L. helveticus* kültürü kullanılan ve çimlendirilen örneklerde gözlemlenmiştir. Genel olarak bütün gruplarda protein artışı olmuştur.

Çizelge 2.3. Maş fasulyesi protein izolatlarının içerdiği amino asit kompozisyonları

Amino asit çeşidi	Maş fasulyesi protein izolatı (mg/g protein)	FAO/WHO (mg/g protein)
Fenilalanin + Tirozin	90.3	63
Lösin	74	66
Lizin	62.4	58
Valin	46.3	35
İzölösin	39.1	28
Histidin	27.9	19
Tireonin	28.4	34
Metiyonin + Sistein	13	25
Triptofan	6.4	11
Glutamik asit	125.4	-
Aspartik asit	85.3	-
Arginin	64.4	-
Serin	38.5	-
Alanin	32.2	-
Glisin	32.2	-
Pirolin	30	-

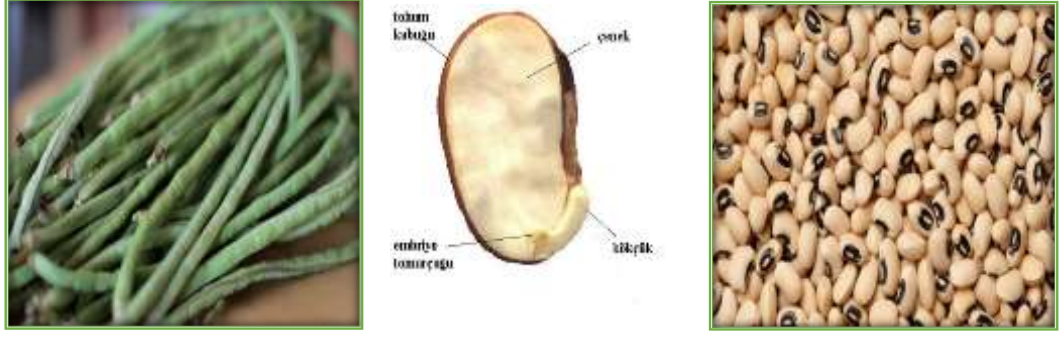
Wu ve ark. (2015) maş fasulyesi ve laktik asit bakterilerini kullanarak yaptıkları çalışmalarında, maş fasulyesi sütü hazırlamış ve *Lactobacillus plantarum* B1-6

probiyotik kültürü kullanarak yeni fonksiyonel ürün denemesi gerçekleştirmişlerdir. Fermente edilmiş maş fasulyesi sütlerinin anjiyotensin dönüştürücü enzimi (ACE) inhibe edici aktivitesi ölçülmüştür. Bakteri popülasyonu üzerine her seferinde bir faktör denenecek şekilde, sakaroz konsantrasyonunun, inokülüm konsantrasyonunun, inkübasyon sıcaklığının ve süresinin etkileri araştırılmıştır. *L. plantarum* B1-6 suşu ile fermente edilen maş fasulyesi sütünün, fermentasyon sonunda önemli ölçüde daha yüksek bir ACE önleyici aktivite (%67.5) gösterdiği bulunmuştur.

Swieca ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada, *L. plantarum*'un filizlenmiş baklagil örneklerinde, besinlerin içeriği ve sindirilebilirliği üzerindeki etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Bu amaçla mercimek, soya fasulyesi, azuki fasulyesi ve maş fasulyesi filizleri *L. plantarum* 299v probiyotik kültürü ile inoküle edilmiştir. Kontrol grubu ve probiyotik bakımından zengin filizlerin soğukta muhafaza sonrasında dahi besin kalitelerini korudukları görülmüştür. Besinlerin sindirilebilirliği genel olarak çok fazla değişmemiş ancak maş fasulyesi filizlerinde nişasta sindirilebilirliğinde artış gözlenmiştir.

2.2.4. Börülce (*Vigna unguiculata* L. Walp)

Börülce, ılıman bölgelerde yetişen ve ekonomik açıdan fayda sağlayan Phaseoleae takımının Leguminosae/Fabaceae familyasının *Vigna unguiculata* L. Walp cinsine ait bir tane baklagildir (Şekil 2.10). Börülce gelişmekte olan ülkelerde, insanlar için önemli bir protein kaynağıdır. Dünyadaki üretim ve tüketim oranlarına bakıldığında %87 ile en yüksek oranın Batı Afrika'da olduğu görülmektedir. Her ne kadar Anadolu *Vigna unguiculata* L. Walp 'ın üretimi açısından merkezi konumunda olmasa da, yapılan çalışmalarda Türkiye'nin farklı türde börülce üretimi açısından oldukça elverişli olduğu belirtilmektedir (Langyintuo ve ark. 2003, Timko ve ark. 2007, Kir ve ark. 2017).



Şekil 2.10. Börülce (*Vigna unguiculata* L. Walp.)

Düşük yağ içeriği ve yüksek protein içeriği ile besleyici bir gıda olan börülcenin, tahıllara ve yumru bitkilere kıyasla iki ile dört kat fazla protein içerdiği bilinmektedir. Ortalama bir börülce tanesi kuru maddede %23-32 protein, %50-60 karbonhidrat, yaklaşık %1 yağ içermektedir. Lisin ve triptofan aminoasitleri açısından zengin olan börülce, metiyonin ve sistein aminoasitlerini hayvansal proteinlere kıyasla daha az içermektedir. (Khalid ve Elharadallou 2013, Cruz ve ark. 2014, Kirse ve Karklina 2015, Jayathilake ve ark. 2018).

Börülcenin diğer baklagillere benzer şekilde fazla miktarda çözünen veya çözünmeyen diyet lifleri içermesinin, sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotasının oluşturulmasında ve korunmasında önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Ngoma ve ark. 2018).

Börülce, beslenme üzerine olumlu etkilerinin yanı sıra, insan sağlığına faydalı biyoaktif bileşenler içermektedir. Yapısında çeşitli fenolik bileşenler, oksidatif stres üzerine doğrudan ve dolaylı etkileri olan flavonoidler, kardiyovasküler sistem üzerine etkileri araştırılmaya devam eden bazı peptitler gibi bileşenler bulundurmaktadır (Ojwang ve ark. 2013, Quansah ve ark. 2013, Awika ve Duodu 2017).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışma kapsamında kullanılan mikroorganizmalar

In vitro koşullarda probiyotik bakterilerin gelişimlerinin incelenmesi ve süt modelinde canlılığının ve bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan probiyotik bakteri suşları *Lactobacillus casei* (DSM 20011) ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (DSM 10140) türleri, DSMZ (Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures-Almanya) firmasının kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Prebiyotik aktivite sayısı tayini için kullanılmak üzere alınan *Enterococcus* türü mikroorganizma örneği; Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.1.2. Baklagil unları

Çalışma kapsamında probiyotik bakterilerin gelişimleri üzerine etkilerinin, prebiyotik potansiyellerinin ve sütteki fonksiyonel etkilerinin belirlenebilmesi amacıyla tedarik edilen baklagil unlarından; bezelye unu, kuru fasulye unu, maş fasulyesi unu ve börülce unu, aynı isimli yemeklik tane baklagillerin öğütülüp toz haline getirilmesiyle elde edilmiştir. Tito ticari isimli bu ürünler, Smart Chemistry (İzmir, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan baklagil unlarının firma tarafından belirtilen enerji ve besin değerleri sırasıyla Çizelge 3.1., Çizelge 3.2., Çizelge 3.3. ve Çizelge 3.4.'te verilmiştir.

Çizelge 3.1. Bezelye ununa ait enerji ve besin değerleri

Enerji ve Besin Değerleri	Miktar (100 g)
Enerji (kcal/ kJ)	333 kcal/ 1393 kJ
Karbonhidrat	60 g
- Şeker	6,7 g
Protein	26,7 g
Yağ	0 g
- Doymuş yağ	0 g
Lif	26,7 g
Kolesterol	0 mg
Sodyum	13 mg
Potasyum	980 mg
Kalsiyum	0 mg

Çizelge 3.2. Kuru fasulye ununa ait enerji ve besin değerleri

Enerji ve Besin Değerleri	Miktar (100 g)
Enerji (kcal/ kJ)	292 kcal/ 1222 kJ
Karbonhidrat	33,1 g
- Şeker	2,9 g
Protein	19,3 g
Yağ	1,6 g
- Doymuş yağ	0,47 g
Lif	3 g
Kolesterol	0 g
Sodyum	350 mg

Çizelge 3.3. Maş fasulyesi ununa ait enerji ve besin değerleri

Enerji ve Besin Değerleri	Miktar (100 g)
Enerji (kcal)	347 kcal
Karbonhidrat	63 g
- Şeker	7 g
Protein	24 g
Yağ	12 g
- Doymuş yağ	0,3 g
Lif	16 g
Kolesterol	0 g
Sodyum	15 mg

Çizelge 3.4. Börülce ununa ait enerji ve besin değerleri

Enerji ve Besin Değerleri	Miktar (100 g)
Enerji (kcal)	343 kcal
Karbonhidrat	61,7 g
- Şeker	0 g
Protein	22,8 g
Yağ	1,5 g
- Doymuş yağ	1,5 g
Lif	4,4 g
Kolesterol	0 g
Sodyum	35 mg
Potasyum	1024 mg
Kalsiyum	74 mg
Vitamin A	30 IU
Vitamin C	0 mg
Demir	5,8 mg

3.1.3. Yağsız süt tozu

Kontrol grubu ve baklagil unları ekstraktı ile zenginleştirilen süt modeli ve fermente süt ürününün üretiminde rekonstitue sütün elde edilmesi amacıyla kullanılan yağsız süt tozu Eker Süt Ürünleri Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş. (Bursa, Türkiye)'den temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan yağsız süt tozuna ait bileşen listesi ve miktarları çizelge 3.5.'te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Yağsız süt tozuna ait bileşenler

Bileşenler (%)	Miktar
Nem	5,0 (max)
Yağ	0-0,5 (max)
Protein	23,5
Toplam kuru madde	95,0

3.1.4. İnülin

Çalışma kapsamında kullanılan ve prebiyotik özelliğe sahip olan inülin, Beneo-Orafti-HSI (Tienen, Belçika) firmasından temin edilmiştir. İnüline ait olan ve firma tarafından beyan edilen özellikler Çizelge 3.6.'da verilmiştir.

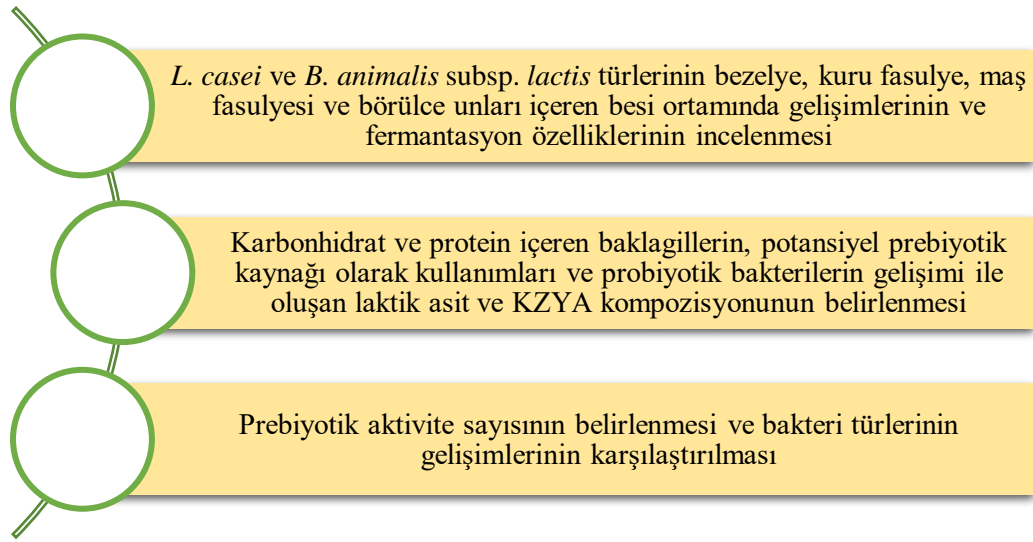
Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan inülin ürününe ait özellikler

Parametre	Özellik
Görünüm	Beyaz-hafif sarı, toz
Tat	Hafif tatlı-tatsız
Suda çözünürlük (25 °C)	>200 g/L
Yoğunluk	650 ± 50 g/L
İnülin	≥86 g/100 g
Glikoz + Fruktoz + Sakkaroz	≤14 g/100 g
Toplam kurumadde	(97 ± 2) g/100 g
Karbonhidrat içeriği	>99,5 g/100 g
Protein	İhmal edilebilir
Yağ	İhmal edilebilir
Vitamin ve mineraller	İhmal edilebilir
Kalori değeri	215 kcal / 871 kJ
İletkenlik (w = 15 g /100g)	<250 µS / cm
pH (w = 10 g/100 g km)	5,0-7,0
Kurşun (Pb, ppm)	<0,02
Arsenik (As, ppm)	<0,03
Kadmiyum (Cd, ppm)	<0,01
Civa (Hg, ppm)	<0,01
Toplam aerobik, mezofilik mikroorganizma sayısı (kob/g)	<1000
Maya (kob/g)	<20
Küf (kob/g)	<20
Anaerobik H₂S üreten termofilik sporlar (kob/g)	<25
Enterobacteriaceae (EMS/g)	Negatif
<i>Bacillus cereus</i> (kob/g)	100 kob/g
Koagülaz pozitif stafilokoklar (EMS/0,1 g)	Negatif
Toplam koliform	Negatif
<i>E. coli</i> (EMS/g)	Negatif
<i>Clostrida</i> spp. (EMS/g)	Negatif
<i>Salmonella</i> spp. (EMS/250 g)	Negatif
<i>Listeria</i> spp. (EMS/25 g)	Negatif

3.2. Yöntem

3.2.1. Probiyotik bakterilerin baklagil unları içeren *in vitro* koşullarda canlılığının ve bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi

Çalışmanın birinci aşamasında *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* probiyotik bakterilerinin, baklagil unları ilave edilmiş *in vitro* koşullarda gelişimleri incelenmiş ve bazı probiyotik özellikleri belirlenmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Probiyotik bakterilerin ilgili besi yerinde gelişimlerinin incelenmesi

Probiyotik bakterilerin gelişme ortamı ve kültürlerin aktive edilmesi

Çalışmada kullanılan *Lactobacillus casei* (DSM20011) ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (DSM 10140) probiyotik bakterilerinin birinci aktivasyonu için Çizelge 3.7.'de belirtilen bileşenleri içeren bazal gelişme ortamı kullanılmıştır. Aseptik koşullar altında inoküle edilen bakteriler, 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Anaerobik koşulların sağlanabilmesi amacıyla oksijen tutucu özellikteki AnaeroGen (Oxoid, İngiltere) ilave edilmiş, anaerobik jarlarda (Merck, Almanya) inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresi sonunda kültürlerin ikinci defa aktive edilmesi amacıyla; *Lactobacillus casei* için esas gelişme ortamı olan MRS (De Man, Rogosa ve Sharpe) sıvı besi yeri (Çizelge 3.8.), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* için esas gelişme ortamı olan TPY (Trypton Pepton Maya Ekstraktı) sıvı besi yeri (Çizelge 3.9.) hazırlanmış, besiyerlerinin içerisindeki bileşenler çözündürülerek, 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiş ve kültürler ilave edilerek 37°C’de 24 saat süreyle tekrar inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda aktif hale getirilen kültürler, çalışmanın inokülasyon aşamalarında kullanılmak üzere -80° C’de depolanmıştır. Depolanan stok kültürlere, kullanılmadan önce MRS Broth besi yerinde 37°C’de 24 saat süreyle zenginleştirme işlemi uygulanmış ve çalışma için hazır hale getirilmiştir.

Çizelge 3.7. Bazal gelişme ortamı bileşimi

Bileşenler	Miktar (g/L)
Kazein pepton	10,00
Et ekstraktı	5,00
Maya ekstraktı	5,00
Bacto soyton	5,00
Glikoz	10,00
K₂HPO₄	2,00
MgSO₄.7H₂O	0,20
MnSO₄.H₂O	0,05
Tween 80	1,00 mL
NaCl	5,00
L-cysteine	0,50
Tuz solüsyonu	
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,25
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,50
K ₂ HPO ₄	1,00
KH ₂ PO ₄	1,00
NaHCO ₃	10,00
NaCl	2,00
Saf su	1000,00 mL
Rezazurin (25mg/100mL)	4,00 mL
Saf su	950,00 mL

Çizelge 3.8. *Lactobacillus casei* için gelişme ortamı olan MRS sıvı besi yeri bileşimi

Bileşenler	Miktar (g/L)
Et ekstraktı	10,000
Kazein pepton	10,000
Maya ekstraktı	5,000
Glikoz	20,000
Tween 80	1,000
K₂HPO₄	2,000
Na-asetat	5,000
Amonyum hidrojen sitrat	2,000
MgSO₄	0,200
MnSO₄	0,003

Çizelge 3.9. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* için gelişme ortamı olan TPY sıvı besi yeri bileşimi

Bileşenler	Miktar (g/L)
Tripton	10,000
Pepton	5,000
Maya ekstraktı	2,500
Glikoz	5,000
Tween 80	1,000
K₂HPO₄.3H₂O	2,000
MgCl₂	0,500
ZnSO₄.7H₂O	0,200
CaCl₂	0,150
FeCl₃.6H₂O	0,003
L-cysteine HCl	0,500

Baklagil unları ilaveli gelişme ortamının hazırlanması ve kültür fermantasyonu

Çalışmada kullanılan probiyotik bakterilerin, baklagil unlarını prebiyotik olarak kullanabilme ve fermente edebilme yeteneklerini belirlemek amacıyla *L. casei* için karbonhidrat içermeyen MRS sıvı besi yeri, *B. lactis* için karbonhidrat içermeyen TPY sıvı besi yeri bazal gelişme ortamı olarak kullanılmıştır. %10'luk solüsyonlar halinde hazırlanan ve 4000 rpm'de 25 dakika santrifüjlenen bezelye unu, kuru fasulye unu, maş fasulyesi unu ve börülce unu örnekleri, 0,45 µm çapında porları olan filtreler (Millipore, Sartorius AG, Goettingen, Almanya) kullanılarak fiziksel sterilizasyon işlemine tabi tutulmuş ve un ekstraktları hazırlamıştır (Sousa ve ark. 2015).

Sterilize hale getirilmiş olan baklagil unları ekstraktları Ozcan ve ark. (2017)'nin çalışmasında belirtilen yöntemlere bazı modifikasyonlar yapılarak, son konsantrasyonda %2 oranında olacak şekilde ilgili besi yeri ortamlarına ilave edilmiştir. Karbonhidrat kaynağı içermeyen gelişme ortamı negatif kontrol, %2 oranında glikoz ve %2 oranında inülin (Orafti-HSI) içeren gelişme ortamları ise pozitif kontrol olarak belirlenmiştir.

Aktif hale getirilen *L. casei* ve *B. lactis* kültürleri besi ortamına %3 oranında ilave edilmiş ve 37°C'de 48 saat süreyle anaerobik koşullar altında inkübasyona bırakılmıştır. Anaerobik ortam koşullarını sağlamak amacıyla, oksijen tutucu özellikteki AnaeroGen (Oxoid, İngiltere)'lar kullanılmış ve örnekler anaerobik jarların (Merck, Almanya) içerisinde, 37°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. *In vitro* çalışma için planlanmış ve uygulanmış olan deneme deseni Çizelge 3.10.'da verilmektedir.

***In vitro* koşullarda fermantasyon süresince uygulanan analizler**

pH analizi

Fermantasyonun 0., 24. ve 48., saatlerinde asitlik gelişiminin saptanması amacıyla pH 315i/SET (WTW, Almanya) marka pH metre ile ölçümler gerçekleştirilmiştir (Ozcan ve ark. 2017).

Çizelge 3.10. Probiyotik bakterilerin ilgili besiyerlerinde gelişimlerinin incelenmesine ait deneme deseni

Bakteri Çeşidi	Besi Yeri Çeşidi	Fermantasyon Süresince Uygulanan Analizler		
		0.saatt	24.saatt	48.saatt
<i>L. casei</i>	Negatif Kontrol	-pH -OD ₆₅₀ -Probiyotik bakteri sayısı	-pH -OD ₆₅₀ -Probiyotik bakteri sayısı	-pH -OD ₆₅₀ -Probiyotik bakteri sayısı ve kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA) belirlenmesi
	Glikoz			
	İnülin			
	Bezelye Unu			
	Kuru Fasulye Unu			
	Maş Fasulyesi Unu			
	Börülce Unu			
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Negatif Kontrol	-pH -OD ₆₅₀ -Probiyotik bakteri sayısı	-pH -OD ₆₅₀ -Probiyotik bakteri sayısı	-pH -OD ₆₅₀ -Probiyotik bakteri sayısı ve kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA) belirlenmesi
	Glikoz			
	İnülin			
	Bezelye Unu			
	Kuru Fasulye Unu			
	Maş Fasulyesi Unu			
	Börülce Unu			

Optik yoğunluk (OD₆₅₀)

Deneme desenine göre hazırlanmış olan besi yeri ortamlarında gelişmiş olan kültürlerin, o ortamlarda bulunan karbohidrat kaynaklarını fermente edebilme kapasitelerinin değerlendirilmesi amacıyla, fermantasyonun 0., 24. ve 48. saatlerinde Shimatzu UV 1800 model (Kyoto, Japonya) spektrofotometre kullanılarak 650 nm’de ölçümler yapılmıştır (Ozcan ve ark. 2017).

Probiyotik bakteri sayısının belirlenmesi

Fermantasyonun 0., 24. ve 48. saatlerinde *L. casei* ve *B. lactis* sayısının belirlenmesi amacıyla karbohidrat kaynağı içermeyen negatif kontrol grubu, glikoz ve inülin içeren pozitif kontrol grupları ve baklagil unlarını içeren örneklerden 10⁻¹’den 10⁻¹⁰’a kadar dilüsyonlar hazırlanmış ve MRS Agar (Merck, Almanya) kullanılarak ekim yapılmıştır. Anaerobik inkübasyonu sağlamak için anaerobik jar (Merck, Almanya) ve oksijeni uzaklaştırmak amacıyla AnaeroGen (Oxoid, İngiltere) kullanılmıştır. 37°C’de 72 saat süresince gerçekleşen inkübasyon işlemi sonrasında gelişen bakteriler için sayım (30-300 kob/mL) yapılmış ve sonuçlar logaritmik olarak verilmiştir (Ozcan ve ark. 2017).

Probiyotik aktivite sayısının (PAS) belirlenmesi

Probiyotik aktivite sayısı analizi, deneme desenine göre hazırlanmış olan baklagil unları ilaveli besi yerlerinde *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin gelişme potansiyellerini birbirleriyle ve bağırsak kökenli bir mikroorganizma ile karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır. Karşılaştırmanın doğru yapılabilmesi için, başlangıç mikroorganizma sayılarının eşit olması sağlanmıştır. Huebner ve ark. (2007)’nin önerdiği yöntemde, bir gecelik kültürler % 1(v/v) oranında, son konsantrasyonda % 2 oranlarında glikoz, inülin ve baklagil unlarını içeren *L. casei* ve *B. lactis* için MRS sıvı besi yerine, *Enterococcus* için TSB (Tryptic Soy Broth: Tryptone 17,00 g/L; Bacto soytone 3,00 g/L; Glikoz 2,50 g/L; K₂HPO₄ 2,50 g/L; NaCl 5,00 g/L) sıvı besi yerine ilave edilmiş ve kültürler 37°C’de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. 0. ve 24. saatlerdeki bakteri

gelişimleri yapılan sayımlarla belirlenmiş ve probiyotik aktivite sayısı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{PAS} = \frac{\left(\frac{\text{Probiyotik logaritma sayısı kob/mL}_{24.\text{saat Probiyotik}} - \text{Probiyotik logaritma sayısı kob/mL}_{0.\text{saat Probiyotik}}}{\text{Probiyotik logaritma sayısı kob/mL}_{24.\text{saat Glüköz}} - \text{Probiyotik logaritma sayısı kob/mL}_{0.\text{saat Glüköz}}} \right)}{\left(\frac{\text{Enterik logaritma sayısı kob/mL}_{24.\text{saat Probiyotik}} - \text{Enterik logaritma sayısı kob/mL}_{0.\text{saat Probiyotik}}}{\text{Enterik logaritma sayısı kob/mL}_{24.\text{saat Glüköz}} - \text{Enterik logaritma sayısı kob/mL}_{0.\text{saat Glüköz}}} \right)}$$

Laktik asit ve kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA) belirlenmesi

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterileri tarafından üretilen metabolitlerden laktik asit ve kısa zincirli yağ asitleri (asetik, propiyonik ve bütirik) analizleri 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda belirlenmiştir.

Laktik asit analizi için DAD (SPD-M20A) dedektörlü, Shimadzu Prominence marka 20ACBM model yüksek performans likit kromatografisi (HPLC, Japonya) cihazı, Inertsil ODS-4 (250 mm* 4,6 mm, 5µm; GP Sciences, Japonya) kolonu, LC20 AT pompası kullanılmıştır. Mobil faz olarak pH'sı ortofosforik asitle 3'e sabitlenmiş ultra saf su seçilmiştir. Örnekler vorteksenerek santrifüj edildikten sonra enjekte edilmiştir (Aktas ve ark. 2005)

Asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit analizleri Agilent 7697A Headspace ve Agilent 7890A GC 5975C MS cihazları kullanılarak, Yılmaz ve Seçilmiş (2006)'in önerdiği metoda uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Metoda göre; 35°C'de 5 dakika beklendikten sonra dakikada 50°C'lik bir artışla 150°C'ye ulaşılmış ve bu sıcaklıkta 5 dakika beklenmiştir.

Cihazın dedektör ve enjektör sıcaklığı sırasıyla 200°C ve 180°C, akış hızı 25 psi (He), termostat zamanı 5 dk, basınç zamanı 0,5 dk, enjeksiyon zamanı 0,08 dk ve çizim zamanı 0,5 dk olacak şekilde ayarlanmıştır. Homojen haldeki sıvı örneklerden 4 mL alınarak

headspace sistemine enjekte edilmiştir (Yılmaz ve Seçilmiş 2006). Toplam KYZA aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam KZYA} = A + B + P$$

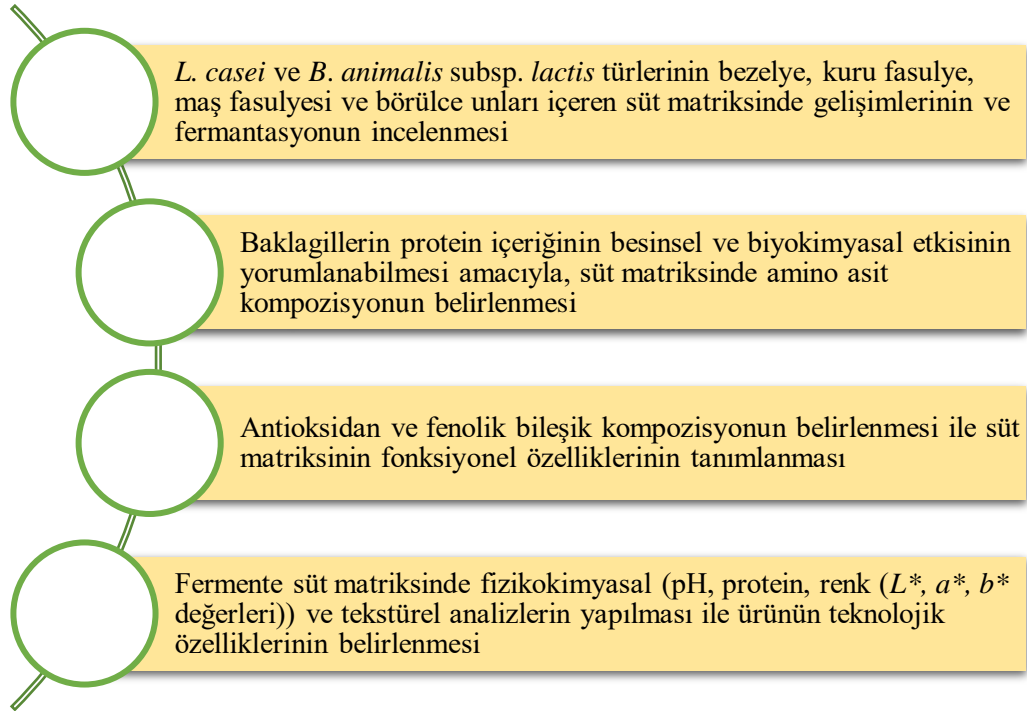
A: Asetik asit

B: Bütirik asit

P: Propiyonik asit

3.2.2. Probiyotik bakterilerin baklagil unları içeren süt modelinde canlılığının ve bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi

Çalışmanın ikinci aşamasında *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* probiyotik bakterilerinin, baklagil unları içeren süt modelinde gelişimleri incelenmiş ve bazı probiyotik özellikleri belirlenmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Probiyotik bakterilerin süt modelinde gelişimlerinin incelenmesi

Probiyotik bakterilerin aktive edilmesi

Çalışmada kullanılan *Lactobacillus casei* (DSM20011) ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (DSM 10140) probiyotik bakterilerinin birinci aktivasyonu için Çizelge 3.7.'de belirtilen bileşenleri içeren bazal gelişme ortamı kullanılmıştır. Aseptik koşullar altında inoküle edilen bakteriler, 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Anaerobik koşulların sağlanabilmesi amacıyla oksijen tutucu özellikteki AnaeroGen (Oxoid, İngiltere) ilave edilmiş, anaerobik jarlarda (Merck, Almanya) inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresi sonunda kültürlerin ikinci defa aktive edilmesi amacıyla; *Lactobacillus casei* için esas gelişme ortamı olan MRS (De Man, Rogosa ve Sharpe) sıvı besi yeri (Çizelge 3.8.), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* için esas gelişme ortamı olan TPY (Trypton Pepton Maya Ekstraktı) sıvı besi yeri (Çizelge 3.9.) hazırlanmış, besiyerlerinin içerisindeki bileşenler çözündürülerek, 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiş ve kültürler ilave edilerek 37°C'de 24 saat süreyle tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda aktif hale getirilen kültürler, ilgili aşamalarda kullanılmak üzere -80° C'de depolanmıştır. Depolanan stok kültürlerle, kullanılmadan önce MRS Broth besi yerinde 37°C'de 24 saat süreyle zenginleştirme işlemi uygulanmış ve çalışma için hazır hale getirilmiştir.

Baklagil unları ilaveli fermente süt matriksinin hazırlanması

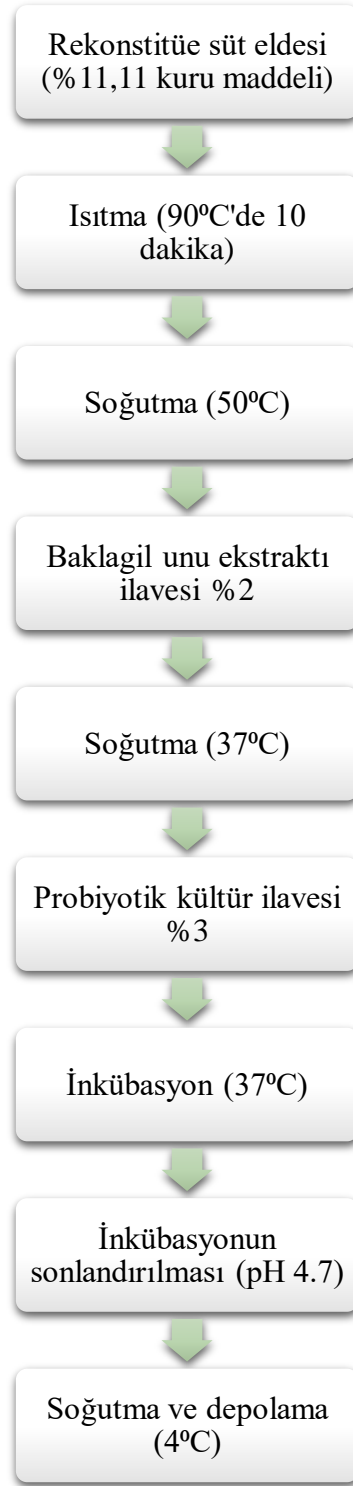
Yağsız süt tozunun 125 g/L oranında saf su ile karıştırılmasıyla %11,11 kuru maddeli rekonstitüe süt elde edilmiştir. Elde edilen rekonstitüe süt, 90°C'de 10 dakika süreyle ısıtma işlemine maruz bırakılmış ve daha sonra ~50°C'ye soğutulmuştur. Çalışma öncesinde *in vitro* ortamda olduğu gibi hazırlanan baklagil unları ekstraktları, farklı oranlarda (%1, %2, %3) denenerek ön denemelerde belirlenen ve seçilen baklagil unu ekstraktı %2 oranında süte ilave edilmiştir.

Sütün sıcaklığı 37°C'ye soğutulduktan sonra, aseptik koşullarda probiyotik kültürler ayrı ayrı (8-9 log₁₀ kob/mL olacak şekilde) %3 oranında ilave edilmiş, pH değeri 4.7'ye ulaşana kadar 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra oda sıcaklığında (20±°C) 30 dakika bekletilen fermente sütler buzdolabına (4±1°C)

alınarak 28 gün süreyle depolanmıştır. Depolamanın 1., 14. ve 28. günlerinde planlanan analizler gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya ait deneme deseni Çizelge 3.11’de, üretim akış şeması Şekil 3.3.’te, örneklere ait görseller Şekil 3.4.’te verilmektedir.

Çizelge 3.11. Fermente süt matriksine ait deneme deseni

Bakteri Çeşidi	Fermente Süt Matriksi Çeşidi	Depolama Süresince Uygulanan Analizler		
		1.gün	14.gün	28.gün
<i>L. casei</i>	Kontrol			
	İnülin	-pH		
	Bezelye Unu	-Probiyotik bakteri sayısı		
	Kuru Fasulye Unu	-Renk tayini -Protein tayini	-pH -Probiyotik bakteri sayısı	-pH -Probiyotik bakteri sayısı
	Maş Fasulyesi Unu	-Amino asit bileşimi	-Renk tayini	-Renk tayini
	Börülce Unu	-Toplam antioksidan aktivite tayini	-Tekstürel analizler	-Tekstürel analizler
<i>B. animalis subsp. lactis</i>	Kontrol			
	İnülin	-Toplam fenolik madde tayini		
	Bezelye Unu	-Tekstürel analizler		
	Kuru Fasulye Unu			
	Maş Fasulyesi Unu			
	Börülce Unu			



Şekil 3.3. Fermente süt matriksine ait üretim akış şeması



Şekil 3.4. Fermente süt matrikslerine ait görseller

Fermente süt matriksinde probiyotik bakteri sayısının belirlenmesi

***L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* sayısının belirlenmesi**

Homojen hale getirilmiştir olan örneklerden, aseptik koşullar altında 10'ar g alınarak, 90 mL steril fizyolojik tuzlu su içeren ortama aktarılmış ve sırasıyla 10^{-1} - 10^{-10} 'luk dilüsyonlar hazırlanmış ve ekimler için dökme plak yöntemi kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan 3 paralelli olacak şekilde steril petri kutularına 1mL aktararak üzerine donma sıcaklığının biraz üzerinde ($\sim 45^{\circ}\text{C}$), kalınlığı en az 2 mm (~ 12 -15 mL besi yeri) olacak şekilde agarlı besi yeri dökülmüştür. Besi yeri döküldükten sonra besi yeri ve örneğin iyice karışması sağlanmıştır.

Besi yeri olarak her iki bakteri için de MRS agar (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Kendi halinde jelleşmeye bırakılan besi yerleri katılaştıktan sonra, petri kutuları ters çevirilerek 37°C’de 72 saat süreyle anaerobik jarların (Merck, Almanya) içerisinde inkübasyona bırakılmıştır. Anaerobik koşulların sağlanması amacıyla AnaeroGen (Oxoid, İngiltere) kullanılmıştır. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra oluşan koloniler (30-300 kob/mL) sayılarak *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* sayısı saptanmış ve sonuçlar logaritmik olarak verilmiştir (Tabasco ve ark. 2007, Abdollahzadeh ve ark. 2018).

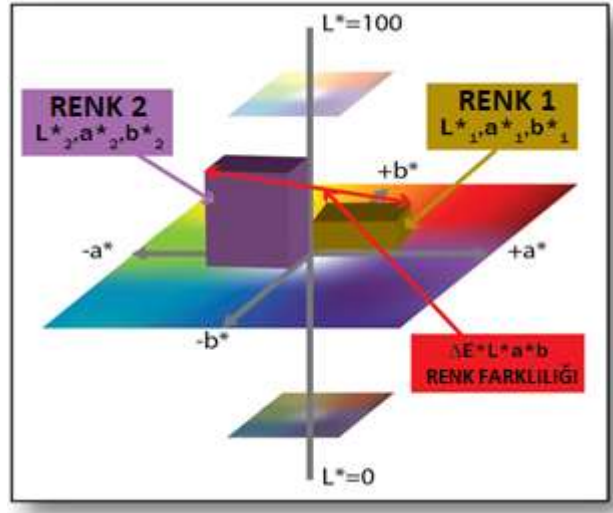
Fermente süt matriksinde fizikokimyasal analizler

Fermantasyon ve depolama boyunca pH analizi

Rekonstitüe süte %3 oranında kültür ilavesi aşamasından başlanarak, fermantasyon süresince ve inkübasyonun sonlandırılma pH’sı olan 4.7’ye ulaşıncaya kadar pH ölçümleri yapılmıştır. İnkübasyon süresi tamamlanan örnekler, depolamaya alınmış, ölçüm için ayrılan örneklerdeki pH değişimleri 24 saat süreyle takip edilmiştir. 28 gün süresince ürünlerde gerçekleşen değişimin tespit edilmesi amacıyla depolama süresi boyunca (1. ve 28. gün) pH ölçümleri kaydedilmiştir. Ölçümler sırasında pH metre’de (pH 315i/SET, WTW, Almanya) gerekli kalibrasyonlar yapılarak örnekler analize hazırlanmıştır (AOAC 2012).

Renk tayini

Kontrol grubu ve baklagil unları ilaveli fermente süt ürünleri örneklerinde renk tayini MSEZ-4500L HunterLab (Virginia, ABD) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Renk tayini sonucunda okunan değerlerden; L^* (parlaklık), a^* (+kırmızı/-yeşillik), b^* (+sarı/-mavilik) değerleri saptanmıştır. Siyah ve beyaz tablalar yardımıyla standardize edilen cihaz ile, tüm örneklerde üç tekrarlı olarak çalışılmıştır (Delikanli ve Ozcan 2014). Şekil 3.5’te Hunter renk sistemindeki parametrelerin (L^* , a^* , b^*) skalası verilmektedir.



Şekil 3.5. Hunter renk sistemindeki parametrelerin (L^* , a^* , b^*) skalası

Protein tayini

Kontrol grubu ve baklagil unları ilaveli fermente süt ürünlerinde protein tayini Gerhardt (Almanya) marka azot/protein tayin cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Toplam protein tayini Kjeldahl yöntemine göre yapılmıştır. Homojen şekilde karıştırılan örneklerden 5'er g alınarak üzerlerine 2-3 g yakma tuzu (2 g K_2SO_4 + 0,2 g Cu_2SO_4) ilave edilmiş daha sonra 18 mL derişik H_2SO_4 eklenerek yakma düzeneğine yerleştirilmiş ve kademeli şekilde arttırılarak $380^\circ C$ 'de 45 dk süreyle yakma işlemine maruz bırakılmıştır. Aynı kimyasallar, içerisinde fermente süt ürünü örneği olmadan eklenerek şahit numune hazırlanmıştır.

Yakma işlemi biten tüpler yakma ünitesinden çıkarılarak oda sıcaklığına soğuması sağlanmıştır. Aynı boş bir erlene her bir örnek için damıtma basamağına hazırlık olarak %2'lik 50 mL H_3BO_3 ve 4 mL 1:1 oranında hazırlanmış metilen mavisi-metil kırmızısı karışık indikatörü karışımı eklenmiştir. Yaklaşık 7 dakika süren işlem sonunda destilatlar 0,1 N H_2SO_4 ile destilat renk değıştiren kadar titre edilerek harcanan miktar aşağıdaki formüle yerleştirilmiş ve % protein miktarı AOAC (2000)'ye göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Azot} = \frac{(V\ddot{o} - V\check{s}) \times N \times 0,014}{m} \times 100$$

$$\% \text{ Toplam protein} = \% \text{ Azot} \times F$$

Vö: Örnek için harcanan 0,1 N H₂SO₄ miktarı (mL)

Vş: Şahit için harcanan 0,1 N H₂SO₄ miktarı (mL)

N: H₂SO₄ normalitesi (0,1)

m: Örnek miktarı (g)

F: Süt ürünlerinde protein tayini için kullanılan sabit (6,38)

Amino asit bileşimi

Baklagil unları ilaveli fermente süt örneklerinde esansiyel amino asitlerden; valin, metiyonin, izölösin, lösin, fenilalanin, histidin ve lisin, esansiyel olmayan amino asitlerden ise; arjinin, serin, glisin, alanin, pirolin, tirolin, tirozin, aspartik asit ve glutamik asit analizleri yapılmıştır. Analizler sırasında DAD (SPD-M20A) dedektörlü Shimadzu Prominence marka 20ACBM model yüksek performans likit kromatografi (HPLC, Japonya) cihazı, 40°C sıcaklıktaki ACE5 C-18 (250 mm* 4,6 mm, 5µm; GP Sciences, Japonya) kolonu, CTO-10ASVp model kolon fırını ve LC20 AT pompa kullanılmıştır. Köse ve ark. (2011)'nın belirttiği yöntem üzerinde gerekli modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilen analizlerde akış hızı 1mL/dk, enjeksiyon hacmi ise 50 µL'dir. Sonuçlar 254 nm'de değerlendirilmiştir.

Toplam antioksidan aktivite tayini (DPPH yöntemi)

Örnekler 4'er g tartılmış, üzerlerine 20 mL metanol-su (%70:30, v/v) çözeltisi ilave edilmiş, 20°C'de karanlıkta 4 saat süreyle çalkalanmış, süre sonunda ekstraktlar 3500 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj işlemi sonunda örneklerdeki sıvı kısım filtrelerden (Whatman) geçirilerek antioksidan kapasite tayini ve toplam fenolik madde tayini için hazır hale getirilmiştir (Ozcan ve ark. 2019)

Fermente süt örneklerinde antioksidan madde tayini Zhao ve ark. (2014)'nın ve Oliveira ve ark. (2009)'nın çalışmalarında belirtilen DPPH yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır. Yöntemin prensibi; kararlı serbest radikal difenil-1-pikrilhidrazi (DPPH)'in antioksidan

kimyasalların varlığında karakteristik mor renginin açılmasının spektrofotometrik olarak belirlenmesidir. 0,039 g DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metanolde çözdürölüp 100 mL'ye tamamlanarak (1×10^{-3} M) stok çözelti hazırlanmış, bu stok çözeltiden 6 mL alınarak 100 mL' ye tamamlanmıştır (6×10^{-5} M). Analiz için hazırlanan ekstraktlardan 0,1 mL alınarak üzerine 3,9 mL 6×10^{-5} M DPPH çözeltisi eklenmiştir. 30 dk bekleme süresinden sonra 515 nm'de metanole karşı spektrofotometrik okuma yapılmıştır. Absorbans değerleri 125 mg/L lik stok trolox çözeltisinden farklı konstantasyonlarda hazırlanmış olan trolox kurvesinden oluşturulan formülle “mg Trolox/g” olarak hesaplanmıştır.

Toplam fenolik madde tayini

Baklagil unları ilave edilen fermente sütlerde toplam fenolik madde miktarı, Devi ve ark. (2019)'nın belirttiği Folin-Ciocalteu yönteminin modifiye edilmesi ile yapılmıştır. Yöntemin prensibi; fenolik bileşenlerin Folin-Ciocalteu (FC) ayıracı ile indirgenerek oksitlenmiş forma dönüşmesi ve oluşan mavi rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesidir.

Hazırlanan ekstraksiyonlardan 0,20 mL alınarak, 2,3 mL saf su ile hacimce 1:5 oranında saf su ile seyreltilmiş 0,15 mL FC ayıracı eklenmiş, 5 dk boyunca vortekslenmiş, daha sonra 0,3 mL %35'lik aşırı doymuş Na_2CO_3 çözeltisi ilave edilip karanlık ortamda 2 saat süre ile bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin absorbansı, su ile hazırlanan tanığa karşı 725 nm'de okunmuştur. 500 mg/L'lik stok gallik asit çözeltisinden farklı konstantasyonlarda hazırlanan gallik asit kurvesinden elde edilen formül yardımıyla ‘mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g’ olarak hesaplanmıştır.

Tekstürel analizler

Fermente süt ürünleri örneklerinin tekstürel özelliklerinin belirlenmesi amacıyla Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Enstrümental Analiz Laboratuvarında bulunan TA.XT plus Texture Analyser (Stable Micro Systems Ltd., UK) cihazı ile ölçümler yapılmıştır. Ters ekstrüzyon probu ile back ekstrüzyon testi

uygulanmış ve analiz sırasında baskılama işlemi 1 mm/s crosshead hızında, 40 mm çapında ve 30 mm derinliğindeki silindir probun fermente süt ürünü örneklerine daldırılması ile uygulanmıştır. Ters ekstrüzyon yöntemine göre elde edilen grafiklerde probun örneğe girmesi ile pozitif alan, örnekten çıkması ile negatif alan grafikleri elde edilmektedir. Örneklerin tekstürel özelliklerini gösteren parametrelerin hesaplanması amacıyla Texture Exponent 32 (2007) software (Stable Micro Systems, Godalming, UK) yazılımı kullanılmıştır. Değerlendirmeye alınan parametrelerden sıkılık (firmness; g) maksimum pozitif kuvvet, konsistens (consistency; gs) pozitif bölgenin alanı, iç yapışkanlık (cohesiveness; g) maksimum negatif kuvvet ve viskozite indeksi (index of viscosity; gs) negatif bölgenin alanı olarak değerlendirilmiştir. Analizi yapılan örneklerin standart olması amacıyla derinliği 40 mm olan 100 g'lık kaplar kullanılmış ve analiz 4°C'de gerçekleştirilmiştir (Joon ve ark. 2017).

İstatistiksel Analizler

Çalışmanın ilk aşaması olan baklagil unlarının probiyotik bakteriler tarafından *in vitro* koşullarda fermente edilebilme yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan analizlerde ve çalışmanın ikinci aşamasında üretilen fermente sütte mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve tekstürel özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan analizlerde, veriler arasındaki farklılıkların tespit edilmesi amacıyla ve besi yeri çeşidi, bakteri çeşidi, fermantasyon ve depolama süreleri arasındaki interaksiyonun açıklanabilmesi amacıyla Minitab17 İstatistik Programı kullanılarak varyans analizi (ANOVA, Analysis of Variance) yapılmıştır. İstatistiksel olarak önemli görülen düzeyde farklılıkların karşılaştırılması amacıyla çoklu karşılaştırma testlerinden Fischer'ın LSD testi (Least Significant Difference) kullanılmış ve $p<0,01$ ve $p<0,05$ düzeyinde karşılaştırmalar yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Baklagil unlarının prebiyotik potansiyellerinin *in vitro* koşullarda incelenmesi

4.1.1. *L. casei*'nin *in vitro* koşullarda gelişiminin belirlenmesi

Laktik asit bakterileri (LAB) temel fonksiyonları ile gıda fermantasyonlarında oldukça önemli olan mikroorganizmalardır. *L. casei*, yüksek oranda laktik asit üretimi, ürünlerin lezzet, aroma ve duyuşsal özelliklerini geliştirme, düşük pH ve safra tuzuna yüksek tolerans, antimikrobiyel ve antidiyarejenik özellikleri ile fermente süt ürünlerinin üretiminde prebiyotik kültür olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Bertazzoni ve ark. 2004).

L. casei prebiyotik bakterisi için, farklı baklagil unlarını içeren substrat kaynakları eklenerek hazırlanmış besi yeri örneklerindeki optik yoğunluk (OD₆₅₀), pH ve mikroorganizma sayılarındaki (log₁₀ kob/mL) değişimler Çizelge 4.1'de verilmiştir. Deneme desenine göre karbonhidrat kaynağı içermeyen örnekler negatif kontrolü, glikoz ve inülin içeren örnekler ise; pozitif kontrolü temsil etmektedir.

L. casei'nin fermantasyonu süresince farklı potansiyel prebiyotik substrat kaynağı içeren besi yeri örneklerinde hücre yoğunluğunu belirlemek amacıyla ölçülen OD₆₅₀ değerleri, 0,270 ile 2,137 arasında değişim göstermiştir. En yüksek OD₆₅₀ değeri fermantasyonun 48. saatinde ölçülmüştür. Besi yeri örneklerinin pH değerleri 3,96 ile 6,45 arasında değişim göstermiştir. Genel olarak en düşük pH değeri fermantasyonun 48. saatinde glikoz içeren besi yerinde, en yüksek pH değeri ise 0. saatinde karbonhidrat kaynağı içermeyen kontrol örneğinde ölçülmüştür. Hücre metabolizması üzerinde olumlu etkisi bulunan ve bir monosakkarit olan glikoz, *L. casei* tarafından doğrudan absorbe edilebilmekte ve kullanılabilir (Halliwell ve Whiteman 2004).

Fermantasyon süresi boyunca *L. casei*'ye ait bakteri sayıları 8,000 log₁₀ kob/mL ile 9,992 log₁₀ kob/mL arasında değişim göstermiştir, en yüksek bakteri sayısı fermantasyonun 0. saatinde, en düşük bakteri sayısı ise 24. saatinde saptanmıştır.

Çizelge 4.1. *L. casei* için 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca besi yeri örneklerindeki OD₆₅₀, pH değişimi ve *L. casei* sayısı (log₁₀ kob/mL)

Besi yeri çeşidi	OD ₆₅₀			pH			<i>L. casei</i> sayısı		
	0.saat	24.saat	48.saat	0.saat	24.saat	48.saat	0.saat	24.saat	48.saat
Negatif Kontrol	0,272	0,270	0,591	6,45	5,84	6,21	8,073	8,504	8,051
Glikoz	0,270	1,863	1,873	6,40	4,02	3,96	8,265	8,414	8,256
İnülin	0,274	0,993	0,993	6,41	4,89	4,79	8,717	8,000	8,458
Bezelye	0,316	1,866	1,777	6,40	5,43	5,43	9,498	8,227	8,110
Kuru Fasulye	0,307	1,284	1,224	6,41	5,51	5,46	8,301	8,332	8,506
Maş Fasulyesi	0,307	1,736	1,893	6,41	5,61	5,46	8,001	9,544	8,984
Börülce	0,333	2,009	2,137	6,42	5,46	5,42	9,992	8,278	8,979
Minimum	0,270	0,270	0,591	6,40	4,02	3,96	8,001	8,000	8,051
Maksimum	0,333	2,009	2,137	6,45	5,84	6,21	9,992	9,544	8,984
Ortalama	0,297	1,432	1,499	6,41	5,25	5,25	8,692	8,472	8,478

L. casei'nin fermantasyonu süresince optik yoğunluk (OD_{650}), pH ve mikroorganizma sayılarındaki (\log_{10} kob/mL) değişimlere ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.2'de verilmektedir.

Deneme desenine göre hazırlanmış besi yeri örneklerinin OD_{650} , pH değerlerinin ve mikroorganizma sayılarının (\log_{10} kob/mL) fermantasyon süresi boyunca değişimini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizine göre, besi yeri çeşidi, fermantasyon süresi ve besi yeri çeşidi \times fermantasyon süresi arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2).

İndirekt sayım yöntemleri ile, mikroorganizma kültürlerindeki bulanıklık veya absorbansın ölçülmesiyle OD değerine ulaşılabilmektedir. Bir hücre süspansiyonu tarafından absorbe edilen ışık miktarı, doğrudan hücre kütlesi ya da hücre sayısı ile ilişkilendirilebilmektedir. Optik yoğunluğun fotometrik olarak ölçümünde; monokromatik bir ışık demeti, homojen bir hücre süspansiyonu içinden geçerken iletilen ışık miktarındaki azalma (absorbans) türbidimetrik ya da refraktometrik yöntemlerle belirlenmektedir (Griffiths ve ark. 2011).

L. casei'nin fermantasyonu süresince besi yeri çeşitlerinin OD_{650} değerlerine ilişkin LSD testi sonuçlarına göre, en yüksek OD_{650} değeri (1,493) börülce unu ekstraktı ilave edilen besi yeri ortamında, en düşük OD_{650} değeri (0,378) ise karbonhidrat kaynağı içermeyen kontrol grubunda saptanmıştır. Çizelge 4.2'ye göre glikoz, bezelye ve maş fasulyesi ilave edilen besi yeri örneklerinin istatistiki olarak aynı gruba dahil olduğu görülmüştür.

Tahıllar ve baklagiller, diyet lifi, protein, enerji, mineral, vitamin ve antioksidanlar gibi bileşenleri ile fonksiyonel gıda formülasyonlarının geliştirilmesinde yüksek oranda kullanılırken aynı zamanda probiyotik mikroorganizmaların gelişmesi için fermente edilebilir substratları da içermektedirler (Charalampopoulos ve ark. 2002).

Çizelge 4.2. *L. casei* için 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca besi yeri örneklerindeki OD₆₅₀, pH değişimi ve *L. casei* sayısı (log₁₀ kob/mL) değerlerine ait LSD testi sonuçları

Besi yeri çeşidi	N	OD ₆₅₀	pH	<i>L. casei</i> sayısı
Negatif Kontrol	9	0,378 ^e	6,16 ^a	8,209 ^d
Glikoz	9	1,335 ^b	4,79 ^f	8,312 ^d
İnülin	9	0,753 ^d	5,36 ^c	8,392 ^{cd}
Bezelye	9	1,320 ^b	5,75 ^d	8,612 ^c
Kuru Fasulye	9	0,938 ^c	5,79 ^c	8,380 ^d
Maş Fasulyesi	9	1,312 ^b	5,82 ^b	8,843 ^b
Börülce	9	1,493 ^a	5,76 ^d	9,083 ^a
Fermantasyon süresi				
0	21	0,297 ^c	6,41 ^a	8,692 ^a
24	21	1,431 ^b	5,25 ^b	8,471 ^b
48	21	1,498 ^a	5,25 ^b	8,477 ^b
ANOVA				
Besi yeri çeşidi (B)	6	**	**	**
Fermantasyon süresi (F)	2	**	**	**
B x F	12	**	**	**
Hata	42			

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

Fermantasyon süresine ilişkin OD₆₅₀ değerlerine ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.2.'de verilmiş, fermantasyon boyunca meydana gelen farklılık istatistiksel açıdan (p<0,01) önemli bulunmuştur. OD₆₅₀ değerleri en yüksekten en düşüğe doğru 48. saat, 24. saat ve 0. saat olarak saptanmıştır.

L. casei'nin fermantasyonu süresince pH değerlerine ilişkin LSD testi sonuçlarına göre en düşük pH değeri (4,79) pozitif kontrol olarak değerlendirilen glikoz içeren örnekte, en yüksek pH değeri ise (6,16) negatif kontrol örneğinde saptanmıştır. En düşük OD₆₅₀ değerinin ve en yüksek pH değerinin karbonhidrat içermeyen kontrol örneğinde görülmesi, besi yeri ortamında karbonhidrat kaynağı yetersizliği nedeniyle *L. casei*'nin gelişim gösterememesi ve buna bağlı olarak asitliğin gelişmemesini doğrular niteliktedir.

Fermantasyon süresine ilişkin pH değerlerine ait LSD testi sonuçlarına göre, fermantasyon boyunca meydana gelen farklılık istatistiksel açıdan ($p < 0,01$) önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2). Fermantasyonun 0. saatinde en yüksek pH değerine ulaşılmıştır. Fermantasyonun 24. ve 48. saatlerinde pH değerleri istatistiki olarak aynı gruba dahil olmuş ve pH düşmüştür.

Deneme desenine göre hazırlanmış glikoz, inülin, bezelye, kuru fasulye, maş fasulyesi ve börülce unları içeren besi yeri örneklerinde fermantasyon süresince *L. casei*'nin sayısını belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonuçlarına göre; besi yeri çeşidi, fermantasyon süresi ve besi yeri çeşidi \times fermantasyon süresi arasındaki farklılıklar $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2). Bakteri gelişimindeki farklılığın glikoz, inülin ve baklagil unlarının prebiyotik potansiyellerinin farklı olması ve fermantasyonun farklı düzeylerde gerçekleşmesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

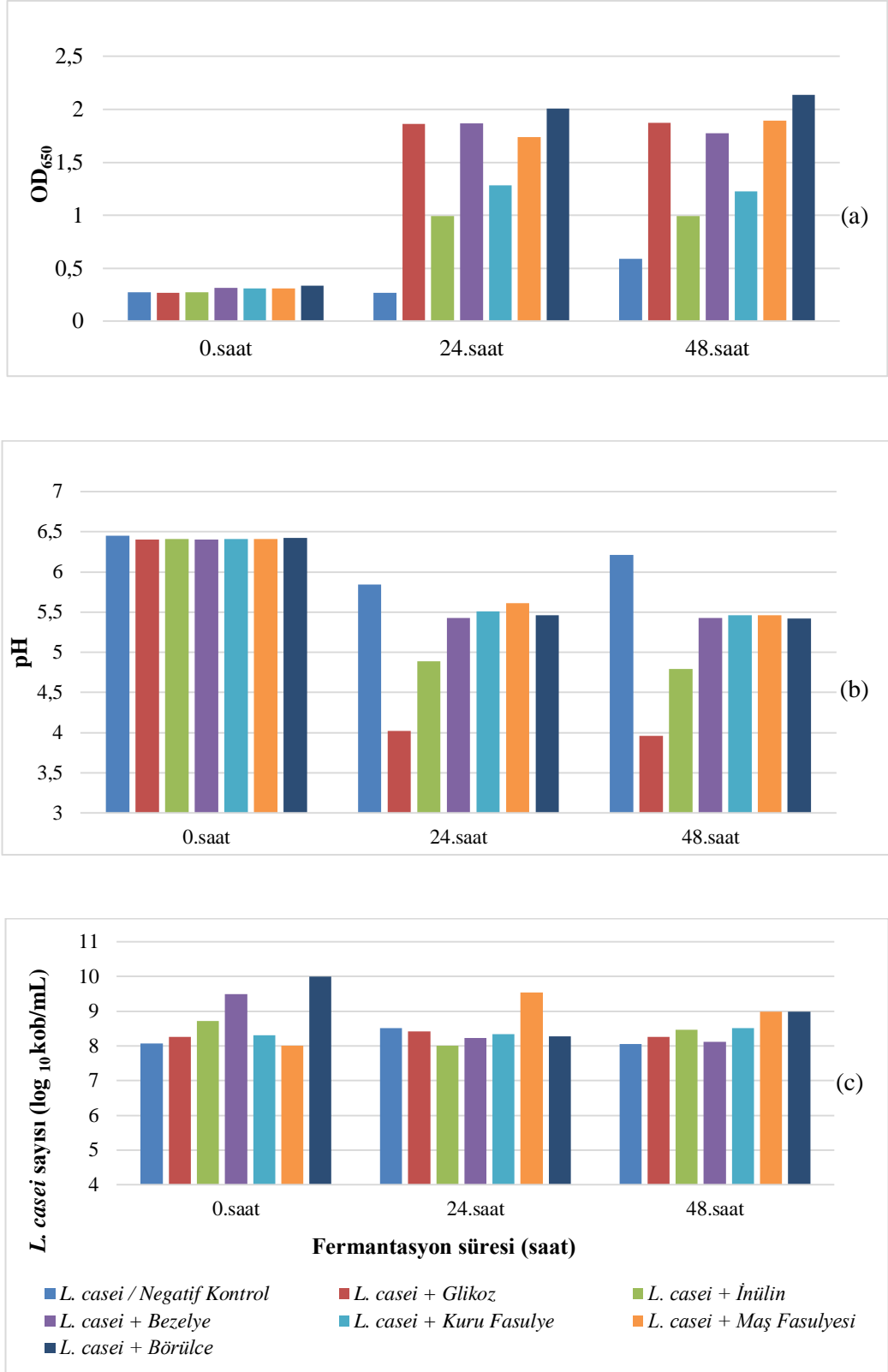
Fermantasyon süresince *L. casei* sayısına ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir ($p < 0,01$). Sonuçlar incelendiğinde en düşük bakteri sayısının (8,209 log₁₀ kob/mL) negatif kontrol, en yüksek bakteri sayısının (9,083 log₁₀ kob/mL) ise börülce unu ekstraktı içeren örneğe ait olduğu görülmektedir.

Mikrobiyel fermantasyon sırasındaki değişimler ile biyokimyasal aktivite, temel metabolitlerin yanısıra, enerji kaynaklarını da ortaya çıkarmaktadır. Hidrolitik enzimlerin aktivasyonu büyük moleküllü polisakkaritler ve proteinleri, küçük moleküllü bileşiklere dönüştürmektedir (Herrera-Ponce ve ark. 2014). Gupta ve ark. (2000), fermantasyon sırasında mikroorganizma gelişiminin ve oluşan metabolitlerin ortam bileşimden etkilendiğini, ayrıca oksijen, pH ve substrat konsantrasyonunun da önemli faktörler olduğunu belirtmektedirler.

Fermantasyon süresine ilişkin *L. casei* sayısı değerlerine ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiş, meydana gelen farklılık istatistiksel açıdan ($p < 0,01$) önemli bulunmuştur. Fermantasyonun 0. saatinde bakteri sayısı özellikle börülce ve bezelye unu ekstraktı içeren ortamlarda en yüksek değere ulaşmıştır. Fermantasyonun 24. ve 48. saatlerinde *L. casei* sayıları azalmıştır. Bu durumun ilk 24 saat hızla gelişen fermantasyon sonucu besiyerinde bulunan karbonhidrat kaynaklarının azalması ve daha sonra gelişimi engelleyici metabolitlerin birikmesiyle, ortamdaki bakterilerin canlılığını sürdürememesine bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. *L. casei* probiyotik bakterisinin fermantasyonu süresince besi yeri örneklerinde meydana gelen OD₆₅₀, pH ve *L. casei* sayılarındaki (\log_{10} kob/mL) değişimler Şekil 4.1’de verilmiştir.

Besi yeri ortamına ilave edilen baklagil unlarının protein içeriği *Lactobacillus* türlerinin gelişimini teşvik etmekte ve ortamdaki düşük serbest amino asit konsantrasyonları baklagil unu ekstraktlarının eklenmesiyle geliştirilmektedir. *Lactobacillus* türlerinin proteinaz ve peptidaz enzimleri, peptid ve amino asit taşıma sistemleri üretme kabiliyetleri ile, besi yerinde bulunan amino asitleri daha etkili kullanmaktadırlar. *L. casei*’nin fermantasyon süresince daha yüksek bir adaptasyon sergilediğı ve protein takviyesi ile gelişiminin arttığı belirtilmektedir (Pescuma ve ark. 2008).

Fermantasyon ortamında proteinler ve karbonhidratlar gibi besin grupları miktarının artması, α -amilaz enziminin aktivitesinde artışa neden olmaktadır. *Lactobacillus* türlerinin α -amilaz üretme yetenekleri sayesinde karbonhidratların metabolik sentezi olumlu yönde artmakta ve bakterilerin gelişimleri desteklenmektedir (Calderon ve ark. 2003).



Şekil 4.1. Fermentasyon boyunca besi yeri örneklerindeki OD₆₅₀ (a), pH değerleri (b) ve *L. casei* sayısı (log₁₀ kob/mL) (c)

4.1.2. *B. animalis* subsp. *lactis*'in *in vitro* koşullarda gelişiminin belirlenmesi

Bifidobacterium türlerinin gelişme oranı, pH, sıcaklık, çözünmüş oksijen miktarı, rekabetçi mikroorganizmalar ve mikrobiyel inhibitörlerin varlığı gibi pek çok parametreden önemli ölçüde etkilenmektedir. Bu gelişim, fermantasyon boyunca kademeli olarak gerçekleşmekte, inülin, oligosakkarit ve potansiyel prebiyotik substratların varlığı da bakteri gelişimini teşvik ederek mikrobiyel aktiviteyi olumlu yönde değiştirmektedir (Shori 2016).

B. animalis subsp. *lactis* probiyotik bakterisi için, farklı baklagil substrat kaynakları içerecek şekilde hazırlanmış besi yeri örneklerindeki optik yoğunluk (OD_{650}), pH ve mikroorganizma sayılarındaki (\log_{10} kob/mL) değışimler Çizelge 4.3'te verilmiştir.

B. animalis subsp. *lactis*' in fermantasyonu süresince farklı potansiyel prebiyotik substrat kaynağı içeren besi yeri örneklerinde hücre yoğunluğunu belirlemek amacıyla ölçülen OD_{650} değeri 0,022 ile 2,471 arasında değışim göstermiştir. En yüksek OD_{650} değeri fermantasyonun 48. saatinde, en düşük OD_{650} değeri ise fermantasyonun 0. saatinde ölçülmüştür (Çizelge 4.3).

Besi yeri örneklerinin pH değeri 3,63 ile 6,66 arasında değışim göstermiştir. En düşük pH değeri fermantasyonun 48. saatinde glikoz içeren besi yerinde, en yüksek pH değeri ise 0. saatinde inülin içeren besi yeri örneğinde ölçülmüştür (Çizelge 4.3).

Fermantasyon süresi boyunca *B. animalis* subsp. *lactis*' e ait bakteri sayıları 7,073 \log_{10} kob/mL ile 9,552 \log_{10} kob/mL arasında değışim göstermiştir, en yüksek bakteri sayısı fermantasyonun 48. saatinde genel olarak glikoz içeren besi yerinde, en düşük bakteri sayısı ise 0. saatinde bezelye unu ekstraktı içeren besi yerinde saptanmıştır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. *B. animalis* subsp. *lactis* sayısı için 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca besi yeri örneklerindeki OD₆₅₀, pH değişimi ve *B. animalis* subsp. *lactis* sayısı (log₁₀ kob/mL)

Besi yeri çeşidi	OD ₆₅₀			pH			<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> sayısı		
	0.saat	24.saat	48.saat	0.saat	24.saat	48.saat	0.saat	24.saat	48.saat
Negatif Kontrol	0,036	0,546	0,530	6,64	5,79	5,82	7,857	7,389	8,877
Glikoz	0,022	1,200	1,613	6,63	4,06	3,63	7,951	8,547	9,552
İnülin	0,028	1,008	1,054	6,66	4,47	4,41	7,110	8,569	7,951
Bezelye	0,289	2,175	2,225	6,63	4,78	4,73	7,073	8,326	7,906
Kuru Fasulye	0,237	1,516	1,633	6,62	4,93	4,85	7,522	8,861	8,294
Maş Fasulyesi	2,093	2,371	2,471	6,62	4,93	4,85	7,085	8,460	8,353
Börülce	0,833	2,207	2,230	6,62	4,76	4,63	7,403	8,682	8,451
Minimum	0,022	0,546	0,530	6,62	4,06	3,63	7,073	7,389	7,906
Maksimum	2,093	2,371	2,471	6,66	5,79	5,82	7,951	8,861	9,552
Ortalama	0,505	1,574	1,679	6,63	4,84	4,71	7,428	8,405	8,483

B. animalis subsp. *lactis*' in fermantasyonu süresince optik yoğunluk (OD₆₅₀), pH ve mikroorganizma sayılarındaki (log₁₀ kob/mL) değişimlere ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.4'te verilmektedir. Besi yeri örneklerinin OD₆₅₀, pH değerleri ve mikroorganizma sayılarının (log₁₀ kob/mL) fermantasyon süresi boyunca değişimini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizine göre, besi yeri çeşidi, fermantasyon süresi ve besi yeri çeşidi × fermantasyon süresi arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.4).

B. animalis subsp. *lactis*' in fermantasyonu süresince OD₆₅₀ değerlerine ilişkin LSD testi sonuçlarına göre, en yüksek OD₆₅₀ değeri (2,311) maş fasulyesi unu ekstraktı ilave edilen besi yeri ortamında, en düşük OD₆₅₀ değeri (0,371) ise karbonhidrat kaynağı içermeyen negatif kontrol grubunda saptanmıştır. Çizelge 4.4'e göre tüm örneklerin istatistiki olarak farklı gruplara dahil olduğu görülmüştür.

Fermantasyon süresine ilişkin OD₆₅₀ değerlerine ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.4.'de verilmiş, fermantasyon boyunca meydana gelen farklılık istatistiksel açıdan p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur. OD₆₅₀ değerleri en yüksekten en düşüğe doğru 48. saat, 24. saat ve 0. saat olarak saptanmıştır.

Pek çok gıda maddesinin bileşiminde bulunan ya da ortama ilave edilen glikoz bakterilerce farklı şekilde fermente edilebilen bir substrattır. *B. animalis* subsp. *lactis*' in fermantasyonu süresince besi yeri örneklerinin pH değerlerine ilişkin LSD testi sonuçlarına göre en düşük pH değeri (4,77) glikoz içeren örnekte, en yüksek pH değeri (6,08) ise beklenildiği gibi negatif kontrol örneğinde saptanmıştır. En düşük OD₆₅₀ değerinin ve en yüksek pH değerinin karbonhidrat içermeyen kontrol örneğinde görülmesi, besi yeri ortamında karbonhidrat kaynağı yetersizliği nedeniyle *B. animalis* subsp. *lactis*' in gelişim gösterememesi ve buna bağlı olarak asitliğin gelişmemesini kanıtlar niteliktedir.

Fermantasyon süresine ilişkin pH değerlerine ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir (p<0,01). Fermantasyonun 0., 24. ve 48. saatindeki pH değerleri istatistiki olarak farklı gruplara dahil olmuştur.

Glikoz, inülin, bezelye, kuru fasulye, maş fasulyesi ve börülce unu içeren besi yeri örneklerinde fermantasyon süresince *B. animalis* subsp. *lactis*'in sayısını belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonuçlarına göre; besi yeri çeşidi, fermantasyon süresi ve besi yeri çeşidi × fermantasyon süresi arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan ($p<0,01$) önemli bulunmuştur (Çizelge 4.4). Bakteri gelişimindeki farklılığın glikoz, inülin ve baklagil unlarının prebiyotik potansiyellerinin farklı olması ve fermantasyonun farklı düzeylerde gerçekleşmesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

B. animalis subsp. *lactis* sayısına ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir ($p<0,01$). Sonuçlar incelendiğinde en düşük bakteri sayısının ($7,768 \log_{10}$ kob/mL) bezelye unu ekstraktı içeren örneğe, en yüksek bakteri sayısının ($8,683 \log_{10}$ kob/mL) ise glikoz içeren örneğe ait olduğu görülmektedir. Bunları börülce ve kuru fasulye unu ekstraktı içeren örnekler izlemektedir. Börülcenin yüksek oranda çözünebilen ve çözünmeyen diyet lifleri, fenolik maddeler, mineraller (çinko, potasyum, demir vb.), B grubu vitaminleri gibi fonksiyonel bileşenleri ve protein içeriği ile bağırsak mikrobiyotasının özellikleri üzerinde etkili olduğu, araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (Kir ve ark. 2017, Jayathilake ve ark. 2018). Poonia (2017) ise, kuru fasulyenin oligosakkarit içeriği ile doğal bir potansiyel prebiyotik kaynağı olduğunu belirtmiştir.

Süte oligosakkaritler gibi prebiyotiklerin ve fermente edilebilir şekerlerin ilavesi probiyotik mikroorganizmaların gelişimini olumlu yönde etkilemektedir. *Bifidobacterium* türleri 'bifidus yolu' olarak da adlandırılan ve fosfoketolaz enziminin önemli rol oynadığı metabolizmaları ile, glikozu fermente edebilmekte ve gerekli enerjiyi sağlamaktadırlar (Nguyen ve ark. 2019).

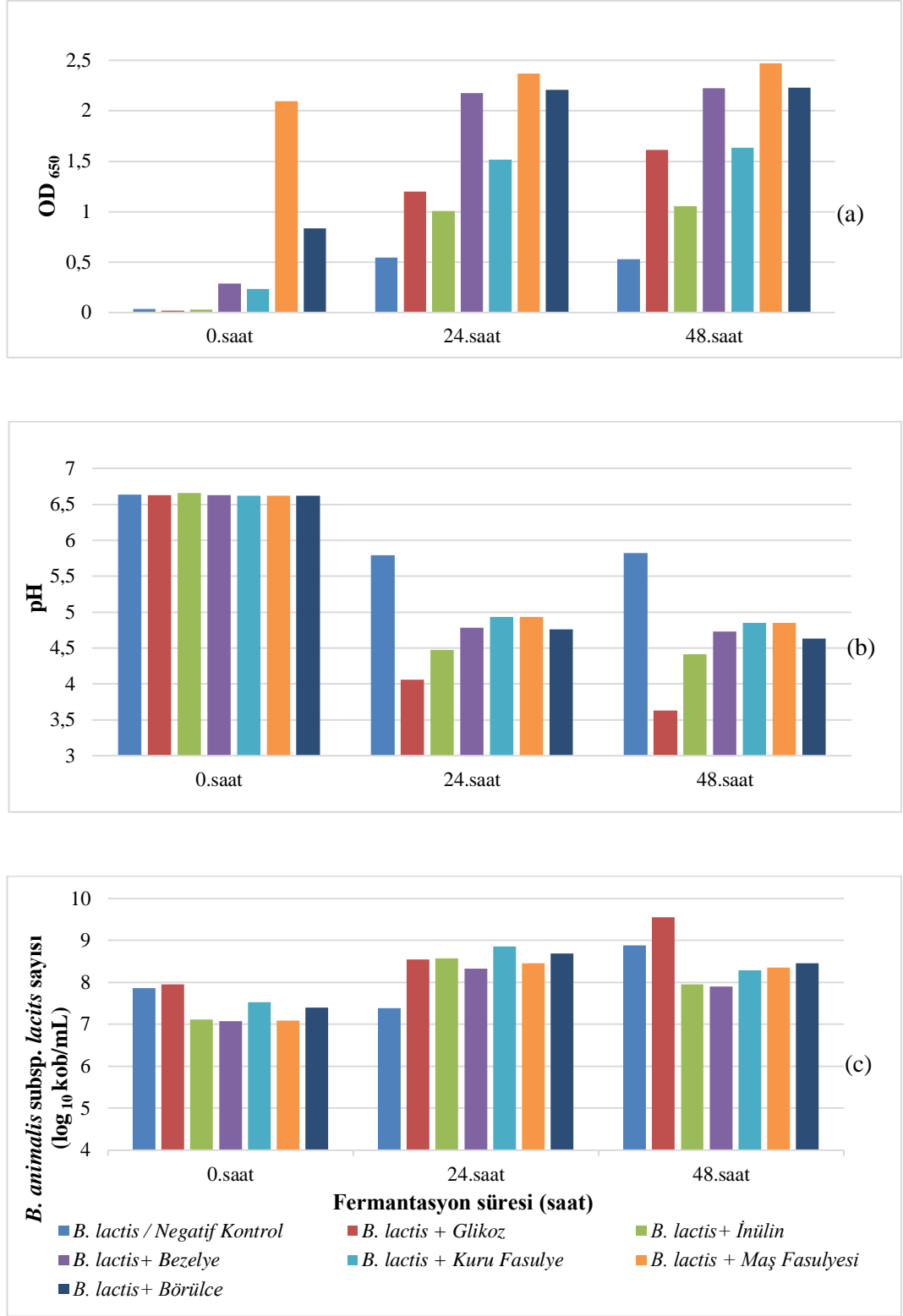
B. animalis subsp. *lactis* sayısı değerlerine ait sonuçlar incelendiğinde, fermantasyonun 0. saatinde en düşük bakteri sayısı değerine, ulaşılırken, fermantasyonun 24. ve 48. saatlerinde *B. animalis* subsp. *lactis* sayıları istatistiki olarak aynı gruba dahil olmuştur ve gelişim artmıştır ($p<0,01$, Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. *B. animalis* subsp. *lactis* sayısı için 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca besi yeri örneklerindeki OD₆₅₀, pH değişimi ve *B. animalis* subsp. *lactis* sayısı (log₁₀ kob/mL) değerlerine ait LSD testi sonuçları

Besi yeri çeşidi	N	OD ₆₅₀	pH	<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> sayısı
Negatif Kontrol	9	0,371 ^g	6,08 ^a	8,041 ^{bc}
Glikoz	9	0,945 ^e	4,77 ^e	8,683 ^a
İnülin	9	0,697 ^f	5,18 ^d	7,877 ^{bc}
Bezelye	9	1,563 ^c	5,38 ^c	7,768 ^c
Kuru Fasulye	9	1,129 ^d	5,47 ^b	8,226 ^b
Maş Fasulyesi	9	2,311 ^a	5,47 ^b	7,967 ^{bc}
Börülce	9	1,757 ^b	5,34 ^c	8,179 ^b
Fermantasyon süresi				
0	21	0,505 ^c	6,63 ^a	7,429 ^b
24	21	1,575 ^b	4,83 ^b	8,405 ^a
48	21	1,680 ^a	4,70 ^c	8,483 ^a
ANOVA				
Besi yeri çeşidi (B)	6	**	**	**
Fermantasyon süresi (F)	2	**	**	**
B x F	12	**	**	**
Hata	42			

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

B. animalis subsp. *lactis* probiyotik bakterisinin fermantasyonu süresince besi yeri örneklerinde meydana gelen OD₆₅₀, pH ve *L. casei* sayılarındaki (log₁₀ kob/mL) değişimler Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Fermantasyon boyunca besi yeri örneklerindeki OD₆₅₀ (a), pH değerleri (b) ve *B. animalis* subsp. *lactis* sayısı (log₁₀ kob/mL) (c)

4.1.3. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis*'in besi yeri örneklerindeki gelişme oranlarının karşılaştırılması

Probiyotik mikroorganizmaların canlılıklarını etkileyen başlıca faktörler arasında kullanılan bakteri türü ya da suşuna ait özellikler ile ortamda ve gıda matrisinde bulunan fermente edilebilir substratlar sayılabilmektedir (Barat ve Ozcan 2018). *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis*' in fermantasyon süresince prebiyotik potansiyeli araştırılan baklagil unlarını fermente edebilme yetenekleri ve bunun sonucunda besi yeri örneklerinde ölçülen OD₆₅₀, pH değerleri ve bakteri sayısı (log₁₀ kob/mL)'na ait karşılaştırmalı LSD testi sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Besi yeri örneklerinin OD₆₅₀ ve pH değerleri ile probiyotik bakteri sayılarının fermantasyon süresince değişimini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizine göre; besi yeri çeşidi, fermantasyon süresi ve besi yeri çeşidi × fermantasyon süresi interaksyonu istatistiksel açıdan p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5).

Besi yeri örneklerinin OD₆₅₀ ve pH değerleri ile probiyotik bakteri sayısına ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Elde edilen bulgular incelendiğinde; en yüksek OD₆₅₀ değerinin (2,311) *B. animalis* subsp. *lactis* + maş fasulyesi unu ekstraktı içeren besi yeri örneğine ait olduğu saptanmıştır. Wu ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada laktik asit bakterisi ile fermente edilmiş maş fasulyesi sütünün probiyotik fermente ürün olarak kullanım potansiyeline sahip olduğunu ve laktik asit bakterilerinin maş fasulyesi içeren matrislerde iyi bir probiyotik kaynak olarak kullanılabildiğini belirtmişlerdir.

Besi yeri örneklerinin pH değerleri incelendiğinde en düşük pH değerinin (5,34) *B. animalis* subsp. *lactis* + börülce unu ekstraktı içeren besi yeri örneğinde tespit edildiği görülmüştür (Çizelge 4.5).

Besi yeri örnekleri probiyotik bakteri sayıları açısından değerlendirildiğinde gruplar içerisinde en yüksek değer (9,083 log₁₀ kob/mL) *L. casei* + börülce unu içeren besi yeri örneğine ait olduğu görülmüştür.

Sonuçlar incelendiğinde, örneklerin OD₆₅₀, pH ve bakteri sayıları arasındaki farklılıkların, değişen substrat bileşimine bağlı olarak besi ortamlarındaki prebiyotikler, kolay erişilebilir sakkaritlerin ve hidrolize peptitlerin varlığı ile *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis*'in farklı fermantasyon yetenekleri ve gelişim oranlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Besi yeri örneklerinin OD₆₅₀ ve pH değerleri ile probiyotik bakteri sayısının fermantasyon süresine ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.5'te verilmektedir. En yüksek OD₆₅₀ değerinin (1,949) 48. saatte, en düşük OD₆₅₀ değerinin (0,590) 0. saatte ölçüldüğü, bu değerlere paralel olarak en düşük pH değerinin (5,10) 48. saatte, en yüksek pH değerinin (6,52) 0. saatte belirlendiği görülmektedir (Çizelge 4.5).

Fermantasyon süresinin probiyotik bakteriler üzerine etkisinin incelendiği değerlere bakıldığında en yüksek bakteri sayılarının 24. saatte (8,589 log₁₀ kob/mL) ve 48. saatte (8,448 log₁₀ kob/mL) olduğu görülmektedir. En düşük bakteri sayısının ise (8,109 log₁₀ kob/mL) ise 0. saatte olduğu saptanmıştır.

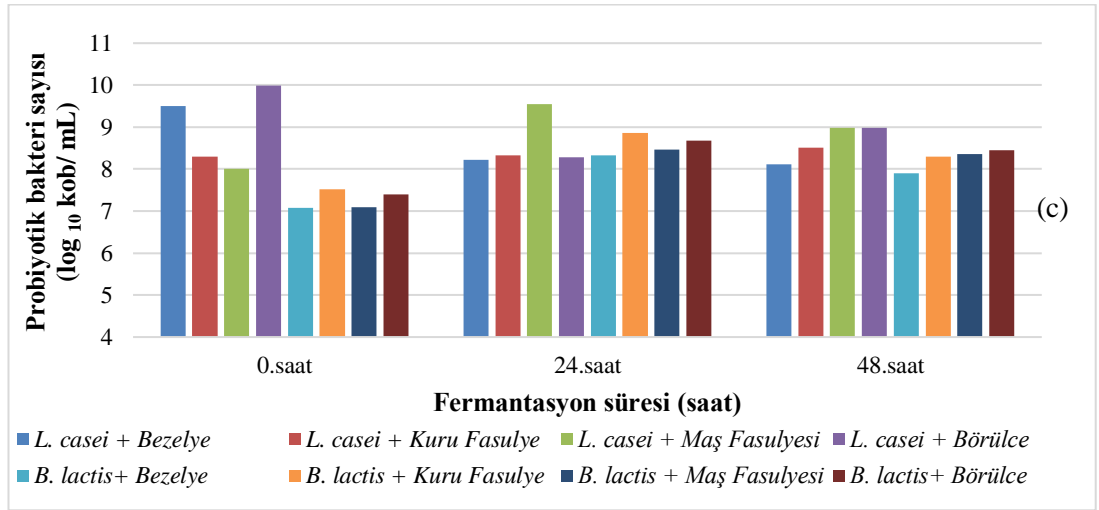
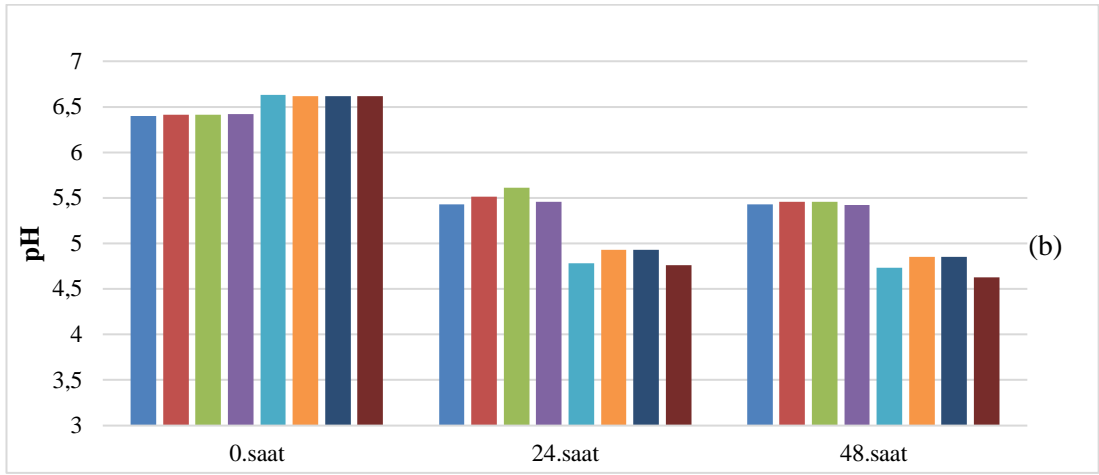
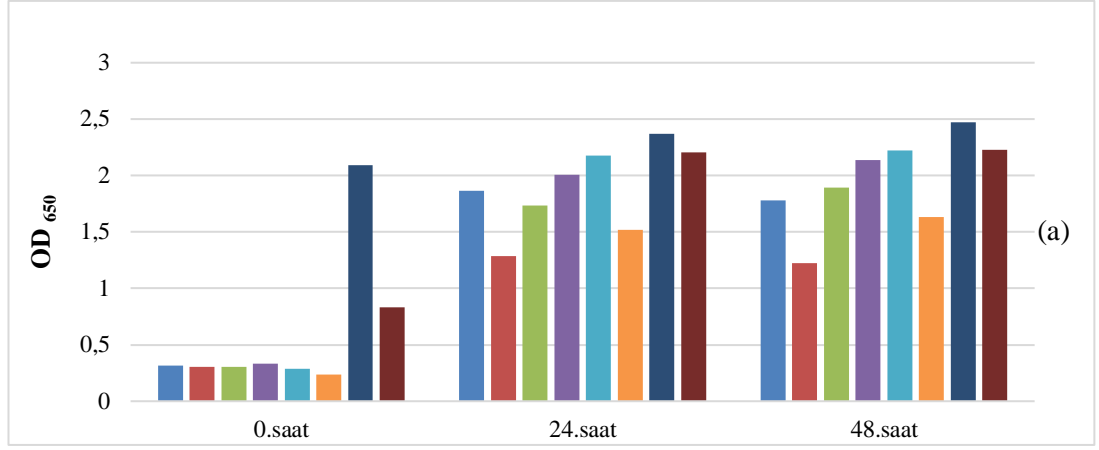
Ranadheera ve ark. (2010) bazı gıda bileşenlerinin, probiyotik kültürlerin gelişimlerinin düzenlendiği gastrointestinal kolondan geçerken tamponlama etkisi yaratabileceklerini ve probiyotik türler ile etkileşime girerek işlevlerini değiştirebilecek biyoaktif bileşenler içerebileceklerini belirtmişlerdir. Yapılan çalışmada, 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca tüm örneklerdeki probiyotik bakteri sayısının; terapötik etkinin görülebilmesi için gerekli asgari düzeyin ($\geq 10^6$ kob/g, Tian ve ark. 2015) üzerinde olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.5. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca, besi yeri örneklerinde OD₆₅₀, pH ve bakteri sayısı (log₁₀ kob/mL) değerlerine aist LSD testi sonuçları

Bakteri türü	Besi yeri çeşidi	N	OD ₆₅₀	pH	Bakteri sayısı (log ₁₀ kob/mL)
<i>L. casei</i>	Bezelye	9	1,320 ^e	5,75 ^c	8,612 ^{bc}
	Kuru Fasulye	9	0,938 ^g	5,79 ^b	8,380 ^{cd}
	Maş Fasulyesi	9	1,312 ^e	5,83 ^a	8,843 ^{ab}
	Börülce	9	1,493 ^d	5,76 ^c	9,083 ^a
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Bezelye	9	1,563 ^c	5,38 ^e	7,768 ^f
	Kuru Fasulye	9	1,129 ^f	5,46 ^d	8,226 ^{de}
	Maş Fasulyesi	9	2,311 ^a	5,47 ^d	7,967 ^{ef}
	Börülce	9	1,757 ^b	5,34 ^f	8,179 ^{de}
	Fermantasyon süresi				
	0	24	0,590 ^c	6,52 ^a	8,109 ^b
	24	24	1,895 ^b	5,18 ^b	8,589 ^a
	48	24	1,949 ^a	5,10 ^c	8,448 ^a
	ANOVA				
	Besi yeri çeşidi (B)	7	**	**	**
	Fermantasyon süresi (F)	2	**	**	**
	B x F	14	**	**	**
	Hata	48			

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

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis*' in fermantasyonu süresince besi yeri ortamlarında meydana gelen OD₆₅₀, pH ve bakteri sayısı (log₁₀ kob/mL) değerlerindeki değişimler Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermantasyon süresi boyunca, besi yeri örneklerinde OD₆₅₀ (a), pH değerleri (b) ve probiyotik bakteri sayısı (log₁₀ kob/mL) (c)

4.1.4. Baklagil unlarının prebiyotik aktivite sayısının (PAS) belirlenmesi

Prebiyotik aktivite sayısı (PAS) ile, bağırsak mikrobiyotasında bulunan probiyotik bakterilerin gelişimini destekleyen substratın istenmeyen diğer mikroorganizma türlerinin de gelişimi üzerine etkisinin karşılaştırılması sağlanmaktadır. Test edilen substrat, glikoz içeren besi ortamları baz alınarak, logaritmik olarak ya da hücre yoğunluğu konsantrasyonu olarak karşılaştırılmakta ve sonuç belirlenmektedir. Yüksek PAS değerine sahip olan substratlar, probiyotik bakterilerin gelişimini yüksek oranda desteklemektedir (Huebner ve ark. 2007, Anprung ve Sangthawan 2012).

Çalışmada kullanılan baklagil unlarının potansiyel prebiyotik etkilerinin belirlenebilmesi amacıyla *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterilerinin fermentasyonunun 0. ve 24. saatindeki bakteri sayıları belirlenmiş ve PAS değerleri hesaplanmıştır.

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterilerini ve baklagil unları ekstraktlarını içeren besi yerlerinde yapılan analizler sonucunda bulunan PAS değerleri Çizelge 4.6'da, PAS değerlerine ait LSD testi sonuçları ise Çizelge 4.7'de verilmiştir ($p < 0,01$). PAS değerlendirildiğinde, en yüksek değer (0,58) *L. casei* + bezelye unu içeren örneğe ait olduğu görülmüştür. Daha sonra sırasıyla *B. animalis* subsp. *lactis* + maş fasulyesi unu içeren ve *L. casei* + kuru fasulye içeren örnek gelmektedir. Probiyotik bakterilerin farklı PAS değerlerine sahip olması, bakteri türlerinin farklılığına bağlı olarak metabolizma ve aktivitelerinin değişiklik göstermesi ve bakteriler tarafından prebiyotiklerin kullanılabilmesinin spesifik enzim hidroliz ve taşıma sistemlerinin farklılığından kaynaklanmış olabileceği sonucuna ulaşılmaktadır.

Kaplan ve Hutkins (2000), *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsi bakterilerin prebiyotik karbonhidratları fermente etme kabiliyetinin hem suşa hem de substrata özgü olduğunu belirtmiştir. Petrulakova ve Valik (2015), bezelye unu ilavesinin probiyotik bakteri gelişimini ve laktik asit üretimini arttırdığını belirtmektedir. Burada, ortam pH'sının düşüşünün patojen bakterilerin gelişimini inhibe etmiş olabileceği düşünülebilir.

Prebiyotiklerin tüketimi konusunda resmi olarak tavsiye edilen miktarlar olmamasına rağmen, bazı araştırmacılar günlük 10 g fruktooligosakkarit ve 7 g galaktooligosakkarit tüketimini önermektedirler (Bouhnik ve ark. 1999, Silk ve ark. 2009).

Çizelge 4.6. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis*'in baklagil unları ilaveli besi ortamlarındaki PAS değerleri

Bakteri türü	Besi yeri çeşidi	PAS
<i>L. casei</i>	Bezelye	0,58
	Kuru Fasulye	0,43
	Maş Fasulyesi	0,21
	Börülce	0,02
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Bezelye	0,12
	Kuru Fasulye	0,08
	Maş Fasulyesi	0,46
	Börülce	0,11

Çizelge 4.7. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis*'in baklagil unları ilaveli besi ortamlarındaki PAS değerlerine ait LSD testi sonuçları

Bakteri türü	Besi yeri çeşidi	N	PAS
<i>L. casei</i>	Bezelye	2	0,58 ^a
	Kuru Fasulye	2	0,43 ^c
	Maş Fasulyesi	2	0,21 ^d
	Börülce	2	0,02 ^g
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Bezelye	2	0,12 ^e
	Kuru Fasulye	2	0,08 ^f
	Maş Fasulyesi	2	0,46 ^b
	Börülce	2	0,11 ^e
	ANOVA		
	Besi yeri çeşidi	7	**
	Hata	8	

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

4.1.5. Laktik asit ve kısa zincirli yağ asitleri (KZYA)'nin belirlenmesi

Bifidobacterium ve *Lactobacillus* spp. gibi probiyotik bakteriler prebiyotik substratları kullanarak, laktik asit ve KZYA üretimi ile fizyolojik etkilerini göstermektedirler. KZYA profili, substrat yapısı ve probiyotik bakteri türüne bağlı olarak değişen oranlarda asetik, propiyonik ve bütirik asidi içermektedir (Cardarelli ve ark. 2007, Tsai ve ark. 2016).

Belirli bir zamanda mikrobiyota tarafından üretilen laktik asit ve toplam KZYA'ların miktarı, mikroorganizmaların potansiyel prebiyotik bileşenleri kullanabilme ölçülerinin değerlendirilmesinde fayda sağlamaktadır (Kotancılar ve ark. 2009, Rowland ve ark. 2018).

L. casei'nin fermantasyon süresi sonunda besi yeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik, bütirik asit (g/L) miktarları incelendiğinde; *L. casei* içeren besi yeri örneklerinde belirlenen laktik asit miktarı 0,173 g/L ile 1,024 g/L; asetik asit miktarı 0,048 g/L ile 0,623 g/L; propiyonik asit miktarı 0,028 g/L ile 0,115 g/L; bütirik asit miktarı ise 0,005 g/L ile 2,293 g/L arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.8).

L. casei'nin 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besi yeri örneklerinde laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarlarının belirlenmesi için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre; tüm örnekler $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Elde edilen verilere göre en yüksek laktik asit miktarı (1,024 g/L) glikoz içeren örnekte, daha sonra kuru fasulye ve bezelye örneğinde, en yüksek asetik asit miktarı (0,623 g/L) negatif kontrol örneğinde ve daha sonra maş fasülyesi örneğinde, en yüksek propiyonik asit miktarı (0,115 g/L) ve en yüksek bütirik asit miktarı (2,293 g/L) ise glikoz içeren ve baklagillerden kuru fasulye örneklerinde bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.8. *L. casei*'nin 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besi yerindeki laktik asit, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarları (g/mL)

Besi yeri çeşidi	Laktik asit (g/L)	Asetik asit (g/L)	Propiyonik asit (g/L)	Bütirik asit (g/L)
Negatif Kontrol	0,173	0,623	0,028	0,250
Glikoz	1,024	0,048	0,115	2,293
İnülin	0,531	0,076	0,084	1,292
Bezelye	0,556	0,158	0,036	0,179
Kuru Fasulye	0,558	0,132	0,075	0,230
Maş Fasulyesi	0,231	0,260	0,072	0,005
Börülce	0,520	0,122	0,071	0,005
Minimum	0,173	0,048	0,028	0,005
Maksimum	1,024	0,623	0,115	2,293
Ortalama	0,513	0,203	0,069	0,608

Çizelge 4.9. *L. casei*'nin 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besi yerindeki laktik asit, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarlarına (g/mL) ait LSD testi sonuçları

Besi yeri çeşidi	N	Laktik asit (g/L)	Asetik asit (g/L)	Propiyonik asit (g/L)	Bütirik asit (g/L)
Negatif Kontrol	3	0,173 ^f	0,623 ^a	0,028 ^f	0,250 ^c
Glikoz	3	1,024 ^a	0,076 ^f	0,115 ^a	2,293 ^a
İnülin	3	0,531 ^c	0,048 ^g	0,084 ^b	1,292 ^b
Bezelye	3	0,555 ^b	0,158 ^c	0,036 ^e	0,179 ^e
Kuru Fasulye	3	0,558 ^b	0,132 ^d	0,075 ^c	0,230 ^d
Maş Fasulyesi	3	0,231 ^e	0,260 ^b	0,072 ^d	0,005 ^f
Börülce	3	0,520 ^d	0,122 ^e	0,071 ^d	0,005 ^f
ANOVA					
Besi yeri çeşidi	6	**	**	**	**
Hata	14				

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

B. animalis subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besi yeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik, bütirik asit (g/L) miktarlarının değişimlerini belirlemek amacıyla uygulanan analizler sonucunda elde edilen değerler Çizelge 4.10'da verilmiştir.

B. animalis subsp. *lactis* içeren besi yeri örneklerinde belirlenen laktik asit miktarı 0,151 g/L ile 0,366 g/L; asetik asit miktarı 0,025 g/L ile 1,220 g/L; propiyonik asit miktarı 0,003 g/L ile 0,064 g/L; bütirik asit miktarı ise 0,007 g/L ile 0,071 g/L arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.10).

Varyans analizi ve LSD testi sonuçlarına göre; en yüksek laktik asit miktarı (0,365 g/L) kuru fasulye unu içeren örnekte, en yüksek asetik asit miktarı (1,220 g/L) kontrol örneğinde, en yüksek propiyonik asit miktarı (0,064 g/L) yine kuru fasulye unu içeren örnekte ve en yüksek bütirik asit miktarı (0,071 g/L) ise börülce unu içeren örneklerde bulunmuştur (Çizelge 4.11'de, $p < 0,01$).

Çizelge 4.10. *B. animalis* subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besi yerindeki laktik asit, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarları (g/mL)

Besi yeri çeşidi	Laktik asit (g/L)	Asetik asit (g/L)	Propiyonik asit (g/L)	Bütirik asit (g/L)
Negatif Kontrol	0,304	1,220	0,034	0,007
Glikoz	0,151	0,085	0,036	0,015
İnülin	0,282	0,311	0,014	0,056
Bezelye	0,241	0,045	0,003	0,050
Kuru Fasulye	0,366	0,082	0,064	0,010
Maş Fasulyesi	0,249	0,030	0,008	0,045
Börülce	0,235	0,025	0,058	0,071
Minimum	0,151	0,025	0,003	0,007
Maksimum	0,366	1,220	0,064	0,071
Ortalama	0,261	0,257	0,035	0,036

Çizelge 4.11. *B. animalis* subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besi yerindeki laktik asit, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarlarına (g/mL) ait LSD testi sonuçları

Besi yeri çeşidi	N	Laktik asit (g/L)	Asetik asit (g/L)	Propiyonik asit (g/L)	Bütirik asit (g/L)
Negatif Kontrol	3	0,304 ^b	1,220 ^a	0,034 ^d	0,007 ^g
Glikoz	3	0,151 ^g	0,085 ^c	0,036 ^c	0,014 ^e
İnülin	3	0,282 ^c	0,311 ^b	0,014 ^e	0,056 ^b
Bezelye	3	0,241 ^e	0,044 ^e	0,003 ^g	0,050 ^c
Kuru Fasulye	3	0,365 ^a	0,082 ^d	0,064 ^a	0,010 ^f
Maş Fasulyesi	3	0,249 ^d	0,030 ^f	0,008 ^f	0,045 ^d
Börülce	3	0,235 ^f	0,025 ^g	0,058 ^b	0,071 ^a
ANOVA					
Besi yeri çeşidi	6	**	**	**	**
Hata	14				

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

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis*'in baklagil unları ilave edilen besi ortamlarında 48 saatlik fermantasyonu sonunda üretilen laktik, asetik, propiyonik, bütirik asit (g/L) miktarlarına ait karşılaştırmalı LSD testi sonuçları Çizelge 4.12'de verilmiştir. Besi yeri örneklerinin laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarlarındaki değişimini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizine göre; besi yeri çeşidi farklılıkları istatistiksel açıdan p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur. *L. casei* + kuru fasulye içeren süt matriksindeki laktik asit ve toplam KZYA miktarlarının en yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.12).

Biyoaktif peptitler, ana protein sekansı içerisinde inaktif formda bulunmasına karşın, laktik asit bakterileri tarafından sütün fermente edilmesi ve enzimatik hidroliz yoluyla açığa çıkabilmektedir. Rui ve ark. (2015), LAB aktivasyonu ile birlikte bitkisel kökenli protein peptitlerinden ACE inhibitörlerinin (anjyotensin dönüştürücü enzim) salınımı üzerine çok az sayıda araştırma olmasına rağmen, kuru fasulye proteinlerinin diğer

baklagillere göre daha güçlü ACE inhibitörü özellikleri gösterdiğini belirtmektedirler. Burada, oluşan peptit hidrolizinin bakteri gelişiminde etkili olmuş olabileceği düşünülebilir.

Su ve ark. (2007), bakterilerin gelişme yeteneği ve oluşturdukları metabolitlerdeki değişikliklerin, besi ortamlarındaki karbon kaynaklarının probiyotik bakteriler tarafından farklı şekilde kullanımlarından kaynaklandığını belirtmektedirler.

Çizelge 4.12. *L.casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyerlerindeki laktik asit, asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit ve toplam KZYA miktarlarına (g/mL) ait LSD testi sonuçları

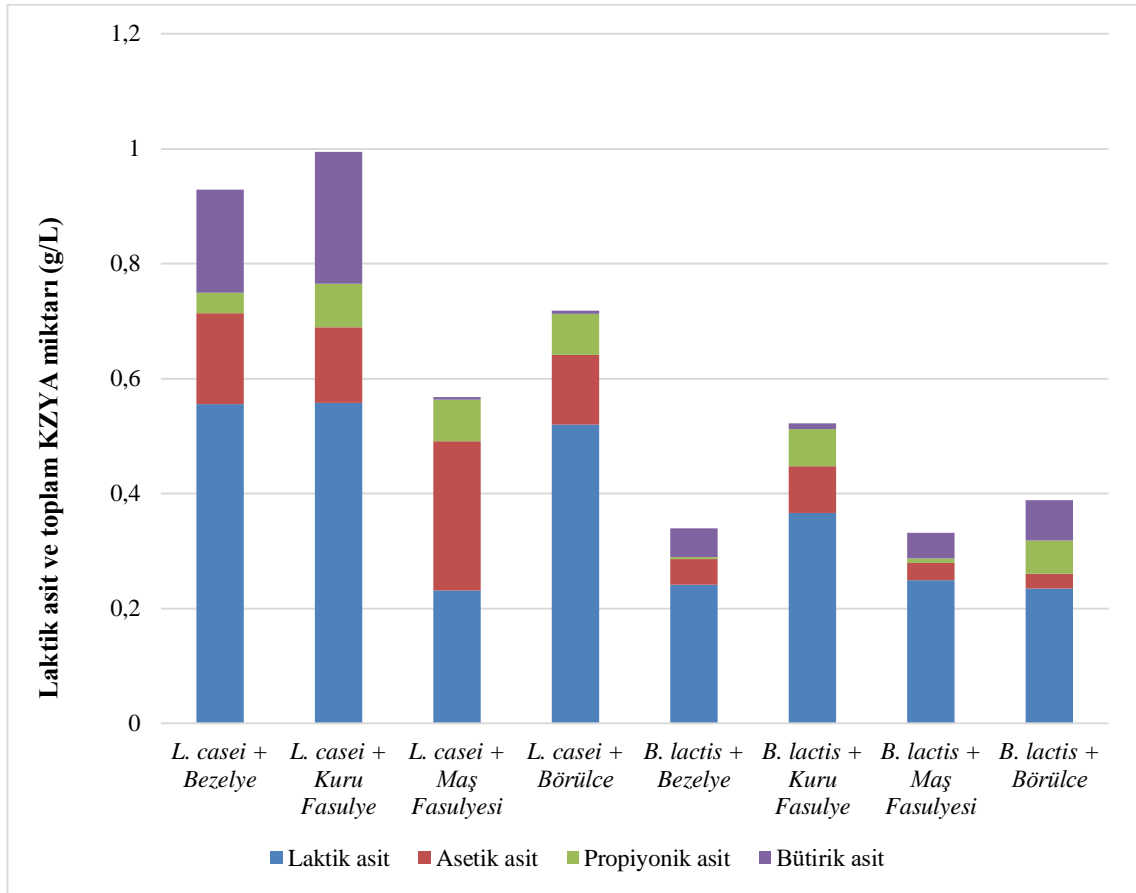
Bakteri türü	Besi yeri çeşidi	N	Laktik asit (g/L)	Asetik asit (g/L)	Propiyonik asit (g/L)	Bütirik asit (g/L)	Toplam KZYA ⁺
<i>L. casei</i>	Bezelye	3	0,555 ^a	0,158 ^b	0,036 ^e	0,179 ^b	0,373 ^b
	Kuru Fasulye	3	0,558 ^a	0,132 ^c	0,075 ^a	0,230 ^a	0,437 ^a
	Maş Fasulyesi	3	0,231 ^g	0,260 ^a	0,072 ^b	0,005 ^g	0,337 ^c
	Börülce	3	0,520 ^b	0,122 ^d	0,071 ^b	0,005 ^g	0,198 ^d
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Bezelye	3	0,241 ^e	0,044 ^f	0,003 ^g	0,050 ^d	0,097 ^f
	Kuru Fasulye	3	0,365 ^c	0,082 ^e	0,064 ^c	0,010 ^f	0,156 ^e
	Maş Fasulyesi	3	0,249 ^d	0,030 ^g	0,008 ^f	0,045 ^e	0,083 ^g
	Börülce	3	0,235 ^f	0,025 ^h	0,058 ^d	0,071 ^c	0,154 ^e
	ANOVA						
	Besi yeri çeşidi	7	**	**	**	**	**
	Hata	16					

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

⁺Toplam KZYA: Asetik asit + Propiyonik asit + Bütirik asit

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis*'in baklagil unları ilave edilen besi ortamlarında 48 saatlik fermantasyonu sonunda üretilen laktik, asetik, propiyonik, bütirik asit miktarları

Şekil 4.4'te verilmiştir. Baklagillerin nişasta içeriği %60-70 oranında amilopektin ve %30-40 oranında amilozdan oluşurken, diğer nişastalar %70-75 oranında amilopektin ve %25-30 oranında amilozdan oluşmaktadır. Yapılan çalışmalarda dirençli nişasta ve amilozun insan sağlığı ve mikrobiyota üzerine faydaları ispatlanmıştır. Dirençli nişasta, insan sindirim enzimleri tarafından tamamen sindirilememekte, kalın bağırsaklarda probiyotik mikroorganizmalar için substrat görevi görmekte ve fermantasyonu ile de kalın bağırsakta sağlık üzerine bir çok faydası olan KZYA'nin üretimini sağlamaktadır (Chen ve ark. 2010).



Şekil 4.4. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyerlerindeki laktik asit, asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit ve toplam KZYA miktarları (g/L)

4.2. Baklagil unları içeren süt modelinde bazı probiyotik özelliklerin belirlenmesi

4.2.1. Baklagil unları içeren süt modelinde mikrobiyolojik özellikler

Fermente süt matriksinde bakteri gelişimi ve canlı hücre sayısı açısından baklagil unlarının potansiyel prebiyotik etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla depolamanın 1., 14. ve 28. günlerinde kontrol grubunda (*L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* içeren/diğer katkıların ilave edilmediği örnekler) ve inülin, bezelye unu, kuru fasulye unu, maş fasulyesi unu ve börülce unu ekstraktlarını içeren fermente süt matriksi örneklerinde belirlenen bakteri sayıları *L. casei* için 9,238 ile 10,174 log₁₀ kob/g arasında değişmektedir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. *L. casei* kültürü kullanılan süt matrikslerindeki bakteri sayısı (log₁₀ kob/g)

Fermente süt matriksi çeşidi	Depolama süresi		
	1.gün	14.gün	28.gün
Kontrol	9,545	10,174	9,439
İnülin	10,129	9,697	9,601
Bezelye	9,414	9,636	9,511
Kuru Fasulye	9,397	9,708	9,538
Maş Fasulyesi	9,374	9,591	9,481
Börülce	9,238	10,040	9,569
Minimum	9,238	9,591	9,439
Maksimum	10,129	10,174	9,601
Ortalama	9,516	9,808	9,523

Kontrol grubu, inülin ve baklagil unları ekstraktları içeren süt matrikslerindeki *L. casei* sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları incelendiğinde fermente süt matriksi çeşidi ve depolama süresi farklılıkları ile fermente süt matriksi çeşidi × depolama süresi interaksiyonun istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmektedir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.14).

Kontrol grubu, inülin ve baklagil unları içeren fermente süt örneklerindeki *L. casei* sayısının değişimine ait LSD testi sonuçlarına göre, en fazla *L. casei* sayısının (9,809

\log_{10} kob/g) inülin içeren örnekte olduğu ve benzer şekilde kontrol grubu, bezelye, kuru fasulye ve börülce unu ekstraktı içeren örneklerin de istatistiksel olarak aynı grupta bulunduğu görülmüştür. İnülin, probiyotik bakteriler tarafından spesifik fermantasyonu açısından kapsamlı testlerden geçmiş, *in vitro* ve *in vivo* koşullarda prebiyotik etkisi kanıtlanmış olan bileşiklerden biridir (Özcan ve ark. 2018). Beklenildiği gibi bakteri gelişimi bu örnekte yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.14).

Fermente süt modelinde yapılan çalışmada kontrol grubunda ve inülin, bezelye unu, kuru fasulye unu, maş fasulyesi unu ve börülce unu içeren fermente süt matriksi örneklerinde belirlenen *B. animalis* subsp. *lactis* sayıları 7,690 ile 9,932 \log_{10} kob/g arasında değişmektedir (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.14. *L. casei* kültürü kullanılan süt matrikslerindeki bakteri sayısına (\log_{10} kob/g) ait LSD testi sonuçları

Fermente süt matriksi çeşidi	N	Bakteri sayısı
Kontrol	9	9,719 ^{ab}
İNülin	9	9,809 ^a
Bezelye	9	9,520 ^{ab}
Kuru Fasulye	9	9,548 ^{ab}
Maş Fasulyesi	9	9,482 ^b
Börülce	9	9,616 ^{ab}
Depolama süresi		
1	18	9,516 ^b
14	18	9,808 ^a
28	18	9,523 ^b
ANOVA		
Fermente süt matriksi çeşidi (F)	5	*
Depolama süresi (D)	2	*
F x D	10	*
Hata	36	

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

Kontrol grubu, inülin ve baklagil unları içeren fermente süt örneklerindeki *B. animalis* subsp. *lactis* sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları incelendiğinde fermente süt matriksi çeşidi ve depolama süresi farklılıkları ile fermente süt matriksi çeşidi × depolama süresi interaksiyonunun önemli olduğu bulunmuştur ($p<0,01$) (Çizelge 4.16).

B. animalis subsp. *lactis* sayısının değişimine ait LSD testi sonuçları incelendiğinde en fazla *B. animalis* subsp. *lactis* sayısının ($9,147 \log_{10}$ kob/g), inülin içeren örnekte olduğu, bunu sırasıyla börülce, maş fasulyesi, kuru fasulye ve bezelye unu içeren örneklerin takip ettiği görülmüştür (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.15. *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerindeki bakteri sayısı (\log_{10} kob/g)

Fermente süt matriksi çeşidi	Depolama Süresi		
	1.gün	14.gün	28.gün
Kontrol	8,568	8,302	8,121
İnülin	9,932	9,009	8,500
Bezelye	8,962	8,860	7,690
Kuru Fasulye	8,788	8,745	8,868
Maş Fasulyesi	9,157	9,192	8,169
Börülce	9,539	9,524	8,274
Minimum	8,568	8,302	7,690
Maksimum	9,932	9,524	8,868
Ortalama	9,158	8,939	8,270

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis*' in depolama süresince probiyotik bakteri sayılarındaki değişimi karşılaştırmak amacıyla fermente süt matrikslerinde ölçülen probiyotik bakteri sayıları (\log_{10} kob/g) Çizelge 4.17'de verilmiştir. Depolama süresince bakteri sayısındaki değişimi belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonuçlarına göre; fermente süt matriksi çeşidi, depolama süresi ve fermente süt matriksi çeşidi × depolama süresi interaksiyonu önemli bulunmuştur (Çizelge 4.17, $p<0,01$).

Süt matrikslerindeki probiyotik bakteri sayısına ilişkin LSD testi sonuçları incelendiğinde *L. casei* bulunan fermente süt matriksleri örneklerinin probiyotik bakteri sayılarının, *B. animalis* subsp. *lactis* bulunan fermente süt matriksleri örneklerinden fazla olduğu görülmüştür (Çizelge 4.17).

Genel olarak *Lactobacillus* türleri, *Bifidobacterium* türlerine göre oksijene karşı daha toleranslıdır; oksijen seviyesindeki değişim *Lactobacillus* türlerinin canlılığı üzerinde nadiren etkili olmaktadır. Normal şartlar altında, *Bifidobacterium* türleri asidik ortam koşullarına karşı oldukça duyarlı olmasına (Barat ve Ozcan 2018) rağmen, Tamime ve ark. (2005) *B. animalis* subsp. *lactis*' in de diğer *Bifidobacterium* türlerine göre düşük pH değerlerine daha toleranslı olduğunu belirtmektedirler.

Çizelge 4.16. *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerindeki bakteri sayısına (\log_{10} kob/g) ait LSD testi sonuçları

Fermente süt matriksi çeşidi	N	Bakteri sayısı
Kontrol	9	8,330 ^c
İnülin	9	9,147 ^a
Bezelye	9	8,504 ^{bc}
Kuru Fasulye	9	8,801 ^{abc}
Maş Fasulyesi	9	8,839 ^{abc}
Börülce	9	9,112 ^{ab}
Depolama süresi		
1	18	9,158 ^a
14	18	8,939 ^a
28	18	8,270 ^b
ANOVA		
Fermente süt matriksi çeşidi (F)	5	**
Depolama süresi (D)	2	**
F x D	10	**
Hata	36	

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

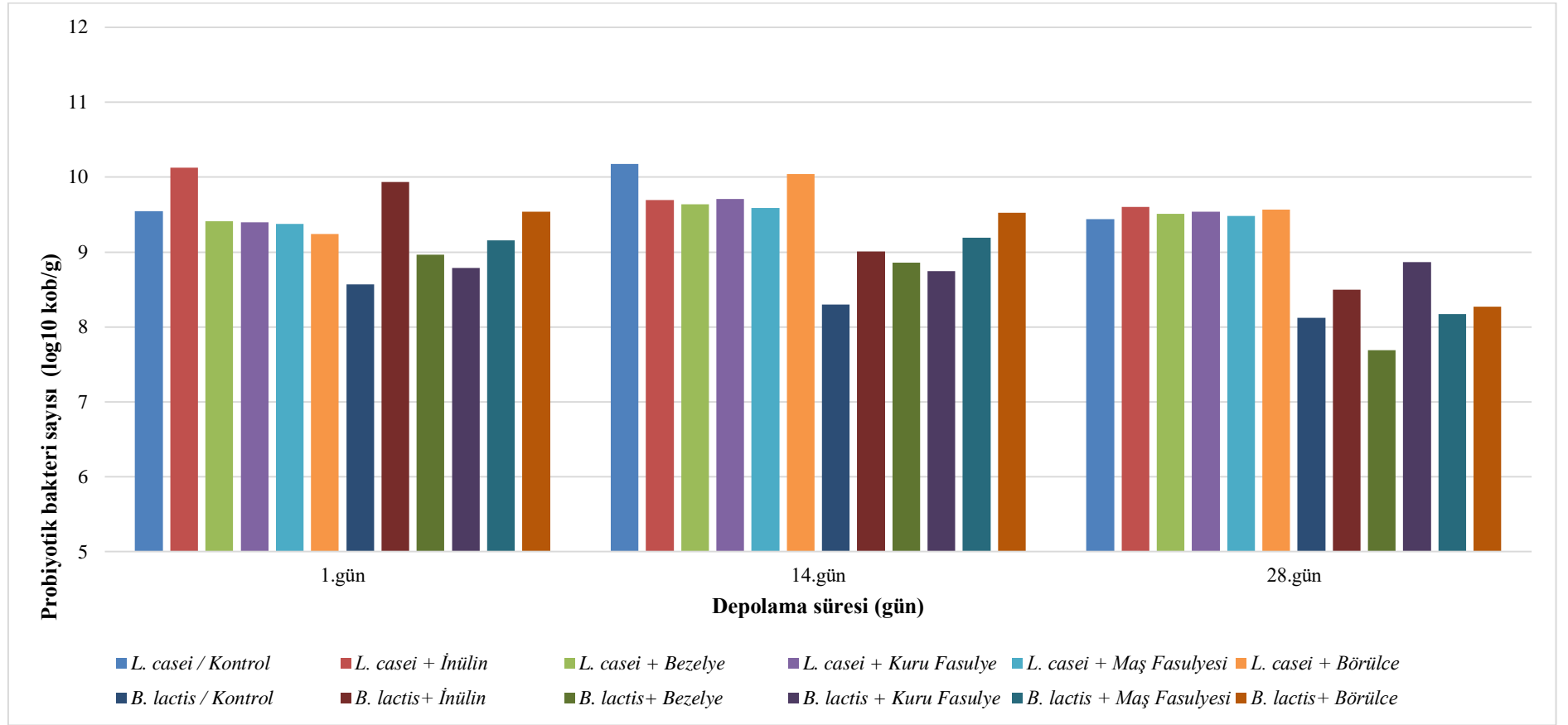
Depolama süresinin probiyotik bakteriler üzerine etkisi incelendiğinde *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterileri için 14. günde en yüksek bakteri sayısı değerine (9,411 log₁₀ kob/g) ulaşıldığı görülmüştür (Çizelge 4.17). Depolamanın son gününe kadar tüm örneklerin, fermente süt ürünleri için tercih edilen terapötik etkinin görülebilmesi için önerilen probiyotik mikroorganizma sayısını (8 log₁₀ kob/mL) sağladıkları görülmüştür (Shah 2007).

Çizelge 4.17. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürleri kullanılan süt matrislerindeki bakteri sayılarına (log₁₀ kob/g) ait LSD testi sonuçları

Bakteri türü	Fermente süt matriksi çeşidi	N	Bakteri sayısı
<i>L. casei</i>	Bezelye	9	9,520 ^a
	Kuru Fasulye	9	9,548 ^a
	Maş Fasulyesi	9	9,482 ^a
	Börülce	9	9,616 ^a
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Bezelye	9	8,504 ^b
	Kuru Fasulye	9	8,800 ^b
	Maş Fasulyesi	9	8,839 ^b
	Börülce	9	9,112 ^{ab}
	Depolama süresi		
	1	24	9,233 ^{ab}
	14	24	9,411 ^a
	28	24	8,887 ^b
	ANOVA		
	Fermente süt matriksi çeşidi (F)	7	**
	Depolama süresi (D)	2	**
	F x D	14	**
	Hata	48	

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

Depolama süresi boyunca inülin, bezelye, kuru fasulye, maş fasulyesi ve börülce unu ekstraktları ilave edilen süt matrikslerindeki *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* probiyotik bakteri sayılarındaki değişim profili Şekil 4.5'te verilmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında, fermente edilebilme potansiyeli yüksek olan diyet lifi ve karbonhidratlar ile bakterilerce hidrolize olma yeteneği gösteren protein ve amino asitleri bulunduran baklagillerin, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin gelişimlerini kontrol ve inülin de olduğu gibi desteklediği söylenebilmektedir. Petrulakova ve Valik (2015), baklagillerin probiyotik bakteriler için taşıyıcı sistemler olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu ve depolama sonunda $6 \log_{10}$ kob/g probiyotik bakteri içeren gıdaların, yasal olarak probiyotik gıda olarak etiketlenebileceğini belirtmişlerdir.



Şekil 4.5. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürleri kullanılan süt matrislerindeki bakteri sayılarındaki (log₁₀ kob/g) değişim

4.2.2. Baklagil unları içeren süt modelinde fizikokimyasal özellikler

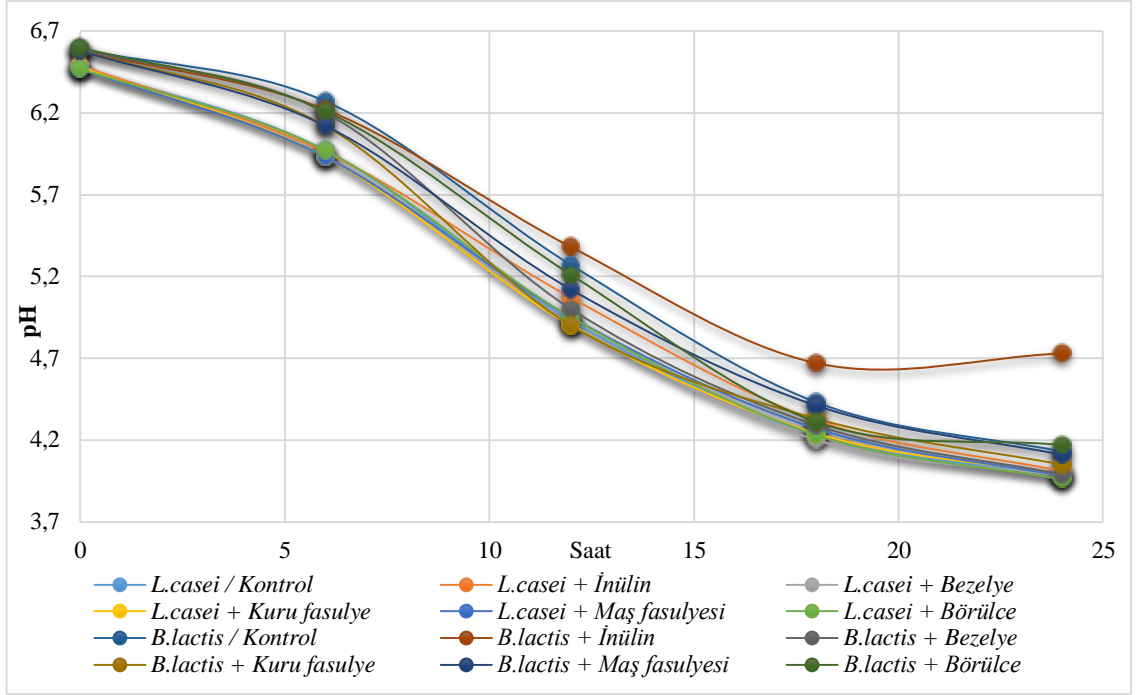
Fermantasyon ve depolama boyunca pH

pH değeri, hidrojen $[H^+]$ ve hidroksil iyonlarının $[OH^-]$ konsantrasyonlarına bağlı olarak asitlik ve bazlık derecesini ifade etmektedir (Sadler ve Murphy 2010). *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakteri kültürü kullanılarak üretilmiş fermente sütlerde fermantasyon süresince (24 saat süreyle) ölçülen pH değerleri Şekil 4.6.'da gösterilmiştir.

Baklagil unları içeren süt matrisinde fermantasyonun sonlandırıldığı pH olan 4,70'e ulaşma süreleri sırasıyla; *L. casei* + börülce (733 dk), *L. casei* + kuru fasulye (737 dk), *L. casei* + maş fasulyesi (737 dk), *L. casei* + bezelye (740 dk), *L. casei* + inülin (745 dk), *L. casei* / kontrol (750 dk), *B. animalis* subsp. *lactis* +kuru fasulye (825 dk), *B. animalis* subsp. *lactis* + börülce (890 dk), *B. animalis* subsp. *lactis* + maş fasulyesi (895 dk), *B. animalis* subsp. *lactis* + bezelye (904 dk), *B. animalis* subsp. *lactis* / kontrol (920 dk) ve *B. animalis* subsp. *lactis* + inülin (921 dk) olarak bulunmuştur. Fermantasyon süresinin artışı metabolik aktivite ile ortama salınan laktik asit miktarına bağlı olarak değişmiştir. *L. casei* içeren süt matrislerinde pH düşüşü daha hızlı olmuştur (Şekil 4.6).

Laktik asit bakterilerinin gelişebilmesi için içerisinde bulunduğu ortamın karbon ve azot kaynağı bileşenler, inorganik tuzlar ve prebiyotikler içermesi gerekmektedir. Bu bileşenler bakterilerin gelişimini hızlandırmakta ve laktik asit bakterileri tarafından proteaz enziminin üretimini teşvik etmektedirler (Chen ve ark. 2016). Çalışmada süt matrisindeki laktoz, proteinler ve baklagil unlarının potansiyel fermente olabilir bileşikleri bakteri gelişimini etkilemiştir.

L. casei bakteri kültürü kullanılan süt matrislerindeki pH değerleri depolama süresince 4,39 ile 4,77 arasında değişmiştir (Çizelge 4.18).



Şekil 4.6. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürleri kullanılan süt matrikslerinde 24 saat süresince pH değişimleri

Depolamanın ilk ve son gününde *L. casei* bakteri kültürü kullanılan süt matrikslerinde pH değişimine ait varyans analizi sonucunda; fermente süt matriksi çeşidi, depolama süresi farklılıkları ile fermente süt matriksi çeşidi × depolama süresi interaksyonu önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Çizelge 4.19). LSD testine göre en düşük pH değeri kuru fasulye unu ekstraktı içeren örnekte ve kontrol grubunda bulunmuştur. Bezelye, maş fasulyesi ve börölce unu içeren süt matriksi örnekleri istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. *L. casei* bakteri kültürü kullanılan süt matrikslerinin pH değerleri 28 günlük depolama süresi boyunca azalmıştır (Çizelge 4.19).

B. animalis subsp. *lactis* bakteri kültürü kullanılan süt matrikslerine ait pH değerleri depolama süresince 4,71 ile 5,35 arasında değişmiştir (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.18. *L. casei* kültürü kullanılan süt matrikslerindeki pH değerleri

Fermente süt matriksi çeşidi	pH	
	1.gün	28.gün
Kontrol	4,75	4,39
İnülin	4,73	4,47
Bezelye	4,73	4,43
Kuru Fasulye	4,75	4,39
Maş Fasulyesi	4,75	4,41
Börülce	4,77	4,39
Minimum	4,73	4,39
Maksimum	4,77	4,47
Ortalama	4,74	4,41

Çizelge 4.19. *L. casei* kültürü kullanılan süt matrikslerindeki pH değerlerine ait LSD testi sonuçları

Fermente süt matriksi çeşidi	N	pH
Kontrol	6	4,57 ^b
İnülin	6	4,60 ^a
Bezelye	6	4,58 ^{ab}
Kuru Fasulye	6	4,57 ^b
Maş Fasulyesi	6	4,58 ^{ab}
Börülce	6	4,58 ^{ab}
Depolama süresi		
1	18	4,75 ^a
28	18	4,41 ^b
ANOVA		
Fermente süt matriksi çeşidi (F)	5	**
Depolama süresi (D)	1	**
F x D	5	**
Hata	24	

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

Depolamanın ilk ve son gününde *B. animalis* subsp. *lactis* bakteri kültürü kullanılan fermente süt örneklerindeki pH değişimine dair yapılan varyans analizi sonucunda; fermente süt matriksi çeşidi, depolama süresi farklılıkları ile fermente süt matriksi çeşidi × depolama süresi interaksiyonu açısından önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Çizelge 4.21).

B. animalis subsp. *lactis* bakteri kültürü kullanılan süt matriksindeki pH değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.21.'de verilmiştir. En düşük pH değeri (4,74) bezelye unu ekstraktı içeren fermente süt örneğinde ve börülce örneğinde bulunmuştur. *B. animalis* subsp. *lactis* bakteri kültürü kullanılarak üretilmiş fermente sütlerin pH değeri 28 günlük depolama süresi boyunca artmıştır. pH'daki değişimlerin kullanılan katkı maddelerinin bileşimindeki proteinlerin tamponlama kapasitesine bağlı olduğu düşünülebilir.

Şekil 4.7'de depolamanın 1. ve 28. günlerinde, fermente süt örneklerinin pH değerlerindeki değişim belirtilmiştir. Örnekler arasındaki farklılıkta, üretimde kullanılan baklagil unlarının bileşimi ve içerdikleri fermente edilebilir karbonhidrat miktarları ve katılan probiyotik kültür aktivitesi ile asitlik gelişiminin değişik zaman ve düzeyde olmasının etkili olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.20. *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerindeki pH değerleri

Fermente süt matriksi çeşidi	pH	
	1.gün	28.gün
Kontrol	4,77	4,85
İnülin	4,78	5,35
Bezelye	4,73	4,74
Kuru Fasulye	4,73	4,95
Maş Fasulyesi	4,77	4,84
Börülce	4,71	4,84
Minimum	4,71	4,84
Maksimum	4,77	5,35
Ortalama	4,75	4,93

Çizelge 4.21. *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrislerindeki pH değerlerine ait LSD testi sonuçları

Fermente süt matriksi çeşidi	N	pH
Kontrol	6	4,81 ^{bc}
İnülin	6	5,06 ^a
Bezelye	6	4,74 ^d
Kuru Fasulye	6	4,84 ^b
Maş Fasulyesi	6	4,80 ^{bc}
Börülce	6	4,78 ^{cd}
Depolama süresi		
1	18	4,74 ^b
28	18	4,93 ^a
ANOVA		
Fermente süt matriksi çeşidi (F)	5	**
Depolama süresi (D)	1	**
F x D	5	**
Hata	24	

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

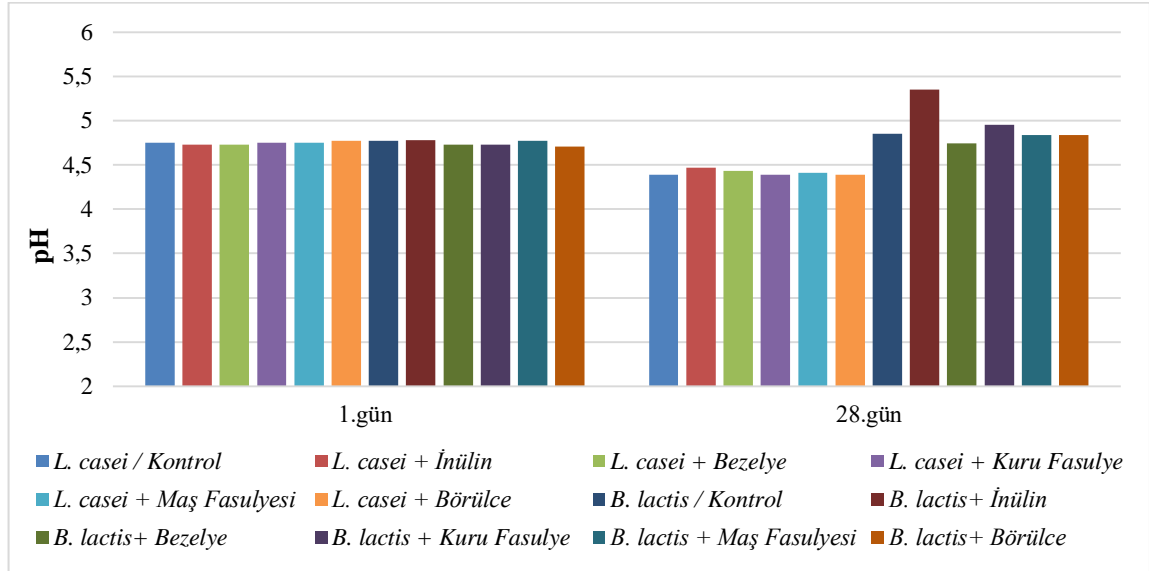
Çizelge 4.22. incelendiğinde, pH değerlerinin depolama boyunca azaldığı görülmektedir. *L.casei* kültürü kullanılan süt matrislerindeki pH değerlerinin, *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrislerindeki pH değerlerine oranla daha düşük olduğu saptanmıştır.

Zhang ve ark. (2014) laktik asit bakteri suşlarının gelişme hızlarındaki artış ile pH değerlerindeki azalmanın bağlantılı olduğunu, Elfahri ve ark. (2014) ise, çeşitli bakteri suşlarının farklı metabolik aktivitelere sahip olduğunu ve gelişimleri için farklı bileşenlere ihtiyaç duyduklarını belirtmişlerdir.

Çizelge 4.22. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürleri kullanılan süt matrikslerindeki pH değerleri değerlerine ait LSD testi sonuçları

Bakteri türü	Fermente süt matriksi çeşidi	N	pH
<i>L. casei</i>	Bezelye	6	4,58 ^d
	Kuru Fasulye	6	4,57 ^d
	Maş Fasulyesi	6	4,58 ^d
	Börülce	6	4,58 ^d
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Bezelye	6	4,74 ^c
	Kuru Fasulye	6	4,84 ^a
	Maş Fasulyesi	6	4,80 ^{ab}
	Börülce	6	4,78 ^{bc}
	Depolama süresi		
	1	24	4,74 ^a
	28	24	4,62 ^b
	ANOVA		
	Fermente süt matriksi çeşidi (F)	7	**
	Depolama süresi (D)	1	**
	F x D	7	**
	Hata	32	

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



Şekil 4.7. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerindeki pH değerleri

Renk tayini

Renk, ürünlerin duyuşsal özelliklerini ve kalitesini belirleyen önemli özelliklerinden biridir. Fermente sütler L^* , a^* ve b^* renk parametreleri açısından değerlendirilmiştir. L^* değeri, 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değer almaktadır ve parlaklığı ifade etmektedir, a^* değeri, -120 ile 120 arasındadır ve kırmızılık/yeşillik anlamına gelmektedir; b^* değeri ise -120 ile 120 aralığında değer almakta ve sarılık/mavilik arasında bir değer taşımaktadır.

L. casei bakteri kültürü kullanılan süt matriksinin L^* değeri 75,99 ile 96,72 arasında değişmektedir. Ortalama L^* değerlerine göre en düşük değer (76,67) depolamanın 1. gününde, en yüksek değer (93,04) ise 28. gününde belirlenmiştir (Çizelge 4.23).

Örneklerde belirlenen a^* değerleri -2,50 ile 0,66 arasında değişim göstermiştir. Ortalama a^* değerleri incelendiğinde ise en düşük değer (-2,12) depolama süresinin 14. gününde ölçülürken, en yüksek değer (0,66) 28. günde ölçülmüştür. Fermente süt matrikslerinde belirlenen b^* değerleri 1,32 ile 5,15 arasında değişim gösterirken, en düşük değer (1,32) depolamanın 28. gününde, en yüksek değer (5,15) ise 14. gününde saptanmıştır (Çizelge 4.23).

L. casei bakteri kültürü kullanılan süt matrikslerinin renk parametrelerine dair varyans analizi sonuçlarına göre; örneklerinin L^* , a^* ve b^* değerlerinin fermente süt çeşidi ve depolama süresi farklılıkları ile, fermente süt çeşidi \times depolama süresi interaksyonu istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Çizelge 4.24). LSD testi sonuçlarına göre en yüksek L^* değeri (83,56) bezelye örneğinde, en yüksek a^* değeri (-0,91) kuru fasulye örneğinde ve en yüksek b^* değeri (4,13) ise kontrol örneğinde saptanmıştır (Çizelge 4.24). Renk değişiminde kullanılan baklagil unlarının özellikleri ve renk pigmentlerinin etkili olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.23. *L. casei* kültürü kullanılan süt matrikslerinde L^* , a^* , b^* değerlerinin değişimi

Fermente süt matriksi çeşidi	L^*			a^*			b^*		
	1.gün	14.gün	28.gün	1.gün	14.gün	28.gün	1.gün	14.gün	28.gün
Kontrol	76,78	76,06	76,43	-1,68	-2,11	-2,06	3,59	4,31	4,50
İnülin	76,36	76,36	96,23	-1,62	-2,31	0,26	3,71	4,68	1,55
Bezelye	77,19	76,87	96,63	-1,89	-2,50	0,13	4,15	5,15	1,88
Kuru Fasulye	77,29	75,99	95,79	-1,55	-1,82	0,66	3,66	4,10	1,32
Maş Fasulyesi	76,28	76,19	96,41	-1,57	-1,84	0,36	3,74	3,78	1,78
Börülce	76,13	76,43	96,72	-1,60	-2,06	0,29	3,51	4,50	2,06
Minimum	76,13	75,99	76,43	-1,89	-2,50	-2,06	3,51	3,78	1,32
Maksimum	77,29	76,87	96,72	-1,55	-1,82	0,66	4,15	5,15	4,50
Ortalama	76,67	76,31	93,04	-1,67	-2,12	-0,06	3,73	4,42	2,18

Çizelge 4.24. *L. casei* kültürü kullanılan süt matrislerinde L^* , a^* , b^* değerlerine ait LSD testi sonuçları

Fermente süt matrisi çeşidi	N	L^*	a^*	b^*
Kontrol	9	76,42 ^c	-1,95 ^f	4,13 ^a
İnülin	9	82,98 ^b	-1,22 ^d	3,31 ^d
Bezelye	9	83,56 ^a	-1,42 ^e	3,72 ^b
Kuru Fasulye	9	83,02 ^b	-0,91 ^a	3,03 ^f
Maş Fasulyesi	9	82,96 ^b	-1,02 ^b	3,10 ^e
Börülce	9	83,10 ^b	-1,12 ^c	3,36 ^c
Depolama süresi				
1	18	76,67 ^b	-1,65 ^b	3,73 ^b
14	18	76,31 ^c	-2,11 ^c	4,42 ^a
28	18	93,04 ^a	-0,06 ^a	2,18 ^c
ANOVA				
Fermente süt matrisi çeşidi (F)	5	**	**	**
Depolama süresi (D)	2	**	**	**
F x D	10	**	**	**
Hata	36			

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

Örneklerin renk değerlerinin depolama sürelerine ilişkin LSD testi sonuçlarına göre depolama süresince en yüksek L^* değeri (93,04) ve en yüksek a^* değeri (-0,06) 28. günde ve en yüksek b^* değeri (4,42) ise 14. günde belirlenmiştir. Bulgular incelendiğinde depolama süresince renk indeksi değerlerine bağlı olarak L^* ve a^* değerlerinin arttığı, b^* değerinin önce artıp sonra azaldığı görülmüştür (Çizelge 4.24).

B. animalis subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrisinin L^* değeri 71,25 ile 94,19 arasında değişmektedir. Örneklerde ortalama L^* değerlerine göre en düşük değer (73,59) depolamanın 14. gününde, en yüksek değer (93,76) ise 28. gününde belirlenmiştir (Çizelge 4.25).

Örneklerde belirlenen a^* değerleri -3,16 ile 0,42 arasında değişim göstermiş, en düşük değer (-2,86) depolama süresinin 14. gününde ölçülürken, en yüksek değer (-0,02) 28. gününde ölçülmüştür. Fermente süt örneklerinde belirlenen b^* değerleri 2,78 ile 6,73 arasında değişim göstermiştir. Ortalama b^* değerlerine göre en düşük değer (3,24) depolamanın 28. gününde, en yüksek değer (6,36) ise 1. gününde saptanmıştır (Çizelge 4.25).

B. animalis subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinin renk parametrelerine dair varyans analizi sonuçlarına göre; örneklerinin L^* ve a^* ve b^* değerlerinin fermente süt çeşidi ve depolama süresi farklılıkları ile, fermente süt çeşidi \times depolama süresi interaksyonu istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0,01$, Çizelge 4.26). Fermente süt matriksinin L^* , a^* ve b^* değerlerine ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.26'da verilmiştir. En yüksek L^* değeri (81,48) maş fasulyesi unu içeren örnekte, en yüksek a^* değeri (-1,60) ve en yüksek b^* değeri (5,59) ise kontrol örneğinde saptanmıştır.

Örneklerin renk değerlerinin depolama süresine ilişkin LSD testi sonuçlarına göre depolama süresince en yüksek L^* değeri (93,76) ve en yüksek a^* değeri (-0,02) 28. günde ve en yüksek b^* değeri (6,36) ise 1. günde belirlenmiştir. Bulgular incelendiğinde depolama süresince örneklerin L^* ve a^* değerlerinin önce azalıp sonra arttığı; b^* değerinin ise azaldığı görülmüştür (Çizelge 4.26).

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakteri kültürü kullanılarak üretilmiş fermente süt örneklerinin renk parametrelerine dair varyans analizi sonuçlarına göre; örneklerinin L^* ve a^* ve b^* değerlerinin fermente süt çeşidi ve depolama süresi farklılıkları ile, fermente süt çeşidi \times depolama süresi interaksyonu istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.25. *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinde L^* , a^* , b^* değerlerindeki değişim

Fermente süt matriksi çeşidi	L^*			a^*			b^*		
	1.gün	14.gün	28.gün	1.gün	14.gün	28.gün	1.gün	14.gün	28.gün
Kontrol	75,86	73,63	94,19	-2,64	-2,57	0,42	6,73	6,68	3,35
İnülin	74,70	71,25	93,16	-2,87	-3,16	0,01	6,24	6,06	3,75
Bezelye	75,04	74,11	93,94	-2,65	-2,67	0,32	6,43	6,39	2,88
Kuru Fasulye	75,71	73,44	93,84	-2,79	-2,92	-0,34	6,12	5,89	2,78
Maş Fasulyesi	75,69	74,98	93,77	-2,68	-2,91	-0,23	6,24	6,54	3,25
Börülce	76,19	74,15	93,63	-2,81	-2,94	-0,29	6,37	6,29	3,43
Minimum	74,70	71,25	93,16	-2,87	-3,16	-0,34	6,12	5,89	2,78
Maksimum	76,19	74,98	94,19	-2,64	-2,57	0,42	6,73	6,68	3,75
Ortalama	75,53	73,59	93,76	-2,74	-2,86	-0,02	6,36	6,31	3,24

Çizelge 4.26. *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinde L^* , a^* , b^* değerlerine ait LSD testi sonuçları

Fermente süt matriksi çeşidi	N	L^*	a^*	b^*
Kontrol	9	81,22 ^b	-1,60 ^a	5,59 ^a
İnülin	9	79,70 ^d	-2,01 ^d	5,35 ^b
Bezelye	9	81,02 ^c	-1,67 ^b	5,23 ^c
Kuru Fasulye	9	81,00 ^c	-2,02 ^d	4,93 ^d
Maş Fasulyesi	9	81,48 ^a	-1,93 ^c	5,34 ^b
Börülce	9	81,33 ^{ab}	-2,02 ^d	5,36 ^b
Depolama süresi				
1	18	75,53 ^b	-2,74 ^b	6,36 ^a
14	18	73,59 ^c	-2,86 ^c	6,31 ^b
28	18	93,76 ^a	-0,02 ^a	3,23 ^c
ANOVA				
Fermente süt matriksi çeşidi (F)	5	**	**	**
Depolama süresi (D)	2	**	**	**
F x D	10	**	**	**
Hata	36			

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

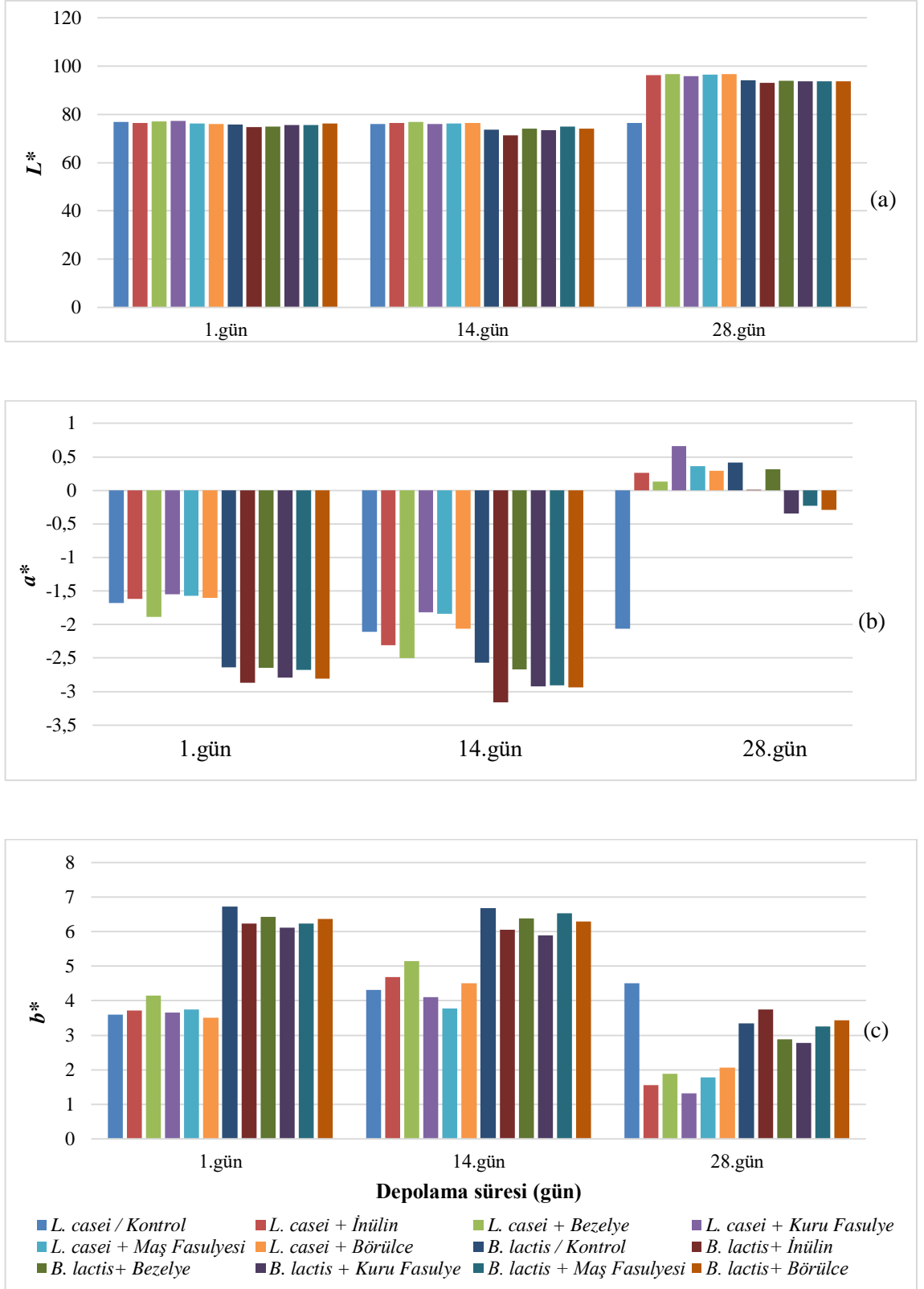
L^* değeri açısından en yüksek değer (83,56) *L. casei* bakterisi tarafından fermente edilmiş bezelye unu içeren süt matriksinde olduğu görülmüştür. a^* değeri açısından en yüksek değer ise (-0,91) *L. casei* + kuru fasulye unu içeren süt matriksinde, b^* değeri açısından en yüksek değer (5,37) ise *B. animalis* subsp. *lactis* + börülce unu içeren süt matriksinde saptanmıştır. Bakteriyel fermantasyon ve baklagil unu bileşimi sonuçları üzerinde etkili olmuştur. Örneklerin L^* , a^* ve b^* değerlerinin depolama süresine ilişkin LSD testi sonuçlarına göre depolama süresince en yüksek L^* değeri (95,09) ve en yüksek a^* değeri (0,11) 28. günde ve en yüksek b^* değeri (5,33) ise 14. günde belirlenmiştir. Bulgular incelendiğinde depolama süresince örneklerde, mikrobiyel değişime bağlı olarak L^* ve a^* değerlerinin önce azalıp sonra arttığı; b^* değerinin ise önce artıp sonra azaldığı görülmüştür (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürleri kullanılan süt matrikslerinde L^* , a^* , b^* değerlerine ait LSD testi sonuçları

Bakteri türü	Fermente süt matriksi çeşidi	N	L^*	a^*	b^*
<i>L. casei</i>	Bezelye	9	83,56 ^a	-1,42 ^d	3,73 ^d
	Kuru Fasulye	9	83,02 ^b	-0,91 ^a	3,03 ^g
	Maş Fasulyesi	9	82,96 ^b	-1,02 ^b	3,10 ^f
	Börülce	9	83,10 ^b	-1,12 ^c	3,36 ^e
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Bezelye	9	81,02 ^d	-1,67 ^e	5,23 ^b
	Kuru Fasulye	9	81,00 ^d	-1,94 ^f	4,93 ^c
	Maş Fasulyesi	9	81,48 ^c	-2,02 ^g	5,34 ^a
	Börülce	9	81,33 ^c	-2,02 ^g	5,37 ^a
	Depolama süresi				
	1	24	76,19 ^b	-2,20 ^b	5,03 ^b
	14	24	75,26 ^c	-2,45 ^c	5,33 ^a
	28	24	95,09 ^a	0,11 ^a	2,42 ^c
	ANOVA				
	Fermente süt matriksi çeşidi (F)	7	**	**	**
	Depolama süresi (D)	2	**	**	**
	F x D	14	**	**	**
	Hata	48			

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

Depolama süresi boyunca kontrol grubu ve baklagil unları ilaveli fermente sütlerin renk parametrelerinin değişimi Şekil 4.8’de görülmektedir.



Şekil 4.8. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürleri kullanılan süt matrikslerinde L^* (a), a^* (b), b^* (c) değerlerinin değişimi

Protein tayini

Gıdalardaki proteinlerin benzersizliği ve kalitesi temel olarak, amino asit kompozisyonu ile spesifik amino asitlerin sindiriminden ve emiliminden sonraki fizyolojik kullanımına bağlıdır (Elhardallou ve ark. 2015).

L. casei bakteri kültürü kullanılarak üretilmiş fermente sütlerin protein değerleri incelendiğinde 4,03 ile 5,18 arasında değiştiği bulunmuştur. En yüksek protein içeriği (5,18) maş fasulyesi unu ilave edilen fermente süt matriksindedir (Çizelge 4.28).

L. casei bakteri kültürü kullanılan süt matriksi örneklerinin protein içeriklerine dair varyans analizi ve LSD testi sonuçlarına göre maş fasulyesi unu içeren süt matriksinin en yüksek protein değerine sahip olduğu, kontrol grubu, bezelye, kuru fasulye ve börülce unu içeren süt matrikslerinin aynı gruba dahil olduğu bulunmuştur ($p<0,01$, Çizelge 4.29).

B. animalis subsp. *lactis* kültürü kullanılarak üretilmiş fermente sütlerin protein değerleri incelendiğinde 4,64 ile 4,88 arasında değiştiği bulunmuştur. (Çizelge 4.30). *B. animalis* subsp. *lactis* bakteri kültürü kullanılan süt matrikslerinin protein içeriklerine dair varyans analizi sonuçlarına göre fermente süt matriksleri arasındaki sonuçların önemli olduğu saptanmıştır. LSD testi sonuçlarına göre ise; bezelye unu içeren süt matriksi en yüksek protein içeriğine sahiptir. Maş fasulyesi ve börülce unu içeren süt matriksleri ise istatistiksel olarak aynı gruba dahil olmuş ve bezelyeden sonra yüksek protein değeri içerecek şekilde saptanmıştır ($p<0,05$, Çizelge 4.31).

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakteri kültürü kullanılan süt matrikslerinin protein içeriklerine dair varyans analizi sonuçlarının önemli olduğu ve en yüksek protein içeriğinin *L. casei* + maş fasulyesi örneğine ait olduğu saptanmıştır ($p<0,01$, Çizelge 4.32). Baklagil unlarının bileşimindeki proteinler, kullanılan probiyotik bakterilerin proteolitik özelliklerindeki farklılık ve gelişme oranına bağlı olarak peptizasyonun değişmesi protein oranları üzerinde etkili olmuştur. Riu ve ark. (2014), LAB'nin proteolitik sistemler geliştirdiğini ve proteinleri hidrolize ederek biyoaktif peptidleri ve amino asitleri serbest bıraktıklarını belirtmişlerdir.

Çizelge 4.28. *L. casei* kültürü kullanılan süt matrikslerinde protein değerleri (%)

Fermente süt matriksi çeşidi	Protein (%)
Kontrol	4,61
İnülin	4,03
Bezelye	4,52
Kuru Fasulye	4,54
Maş Fasulyesi	5,18
Börülce	4,74
Minimum	4,03
Maksimum	5,18
Ortalama	4,60

Çizelge 4.29. *L. casei* kültürü kullanılan süt matrikslerinde protein değerlerine ait LSD testi sonuçları

Fermente süt matriksi çeşidi	N	Protein
Kontrol	2	4,61 ^b
İnülin	2	4,03 ^c
Bezelye	2	4,52 ^b
Kuru Fasulye	2	4,54 ^b
Maş Fasulyesi	2	5,18 ^a
Börülce	2	4,74 ^b
ANOVA		
Fermente süt matriksi çeşidi	5	**
Hata	6	

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

Çizelge 4.30. *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinde protein (%) değerleri

Fermente süt matriksi çeşidi	Protein (%)
Kontrol	4,64
İnülin	4,64
Bezelye	4,88
Kuru Fasulye	4,67
Maş Fasulyesi	4,76
Börülce	4,75
Minimum	4,64
Maksimum	4,88
Ortalama	4,73

Çizelge 4.31. *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinde protein değerlerine ait LSD testi sonuçları

Fermente süt matriksi çeşidi	N	Protein
Kontrol	2	4,64 ^b
İnülin	2	4,63 ^b
Bezelye	2	4,88 ^a
Kuru Fasulye	2	4,67 ^b
Maş Fasulyesi	2	4,76 ^{ab}
Börülce	2	4,75 ^{ab}
ANOVA		
Fermente süt matriksi çeşidi	5	*
Hata	6	

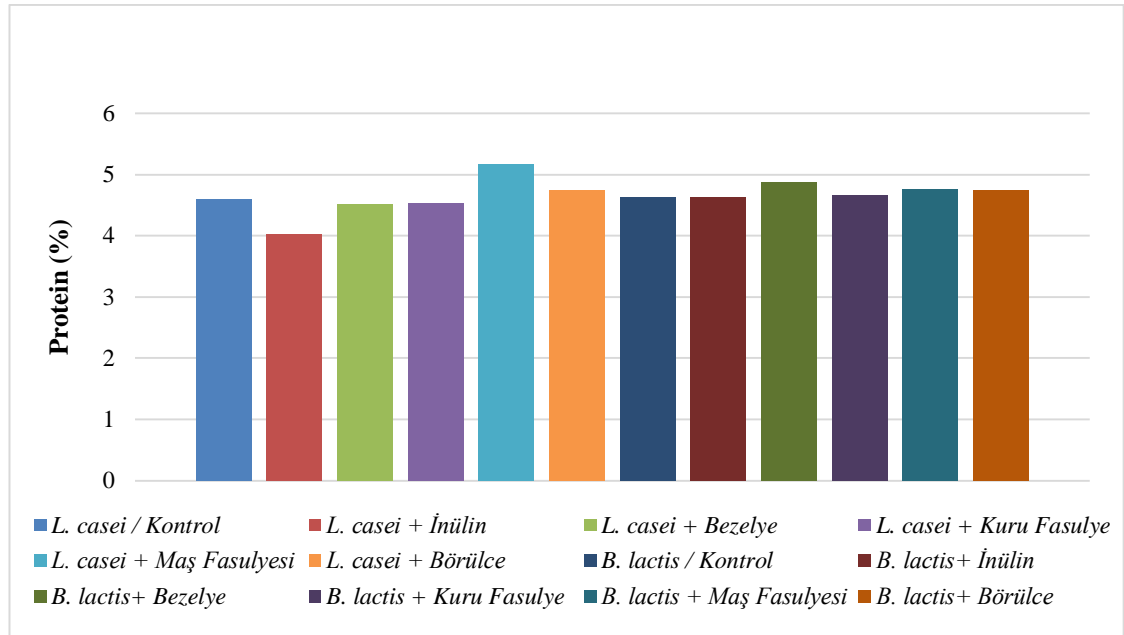
(*) $p < 0,05$ düzeyinde önemli (**) $p < 0,01$ düzeyinde önemli
Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır.

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterilerinin 48 saatlik fermantasyonu sonucunda örneklerin protein değerleri Şekil 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.32. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürleri kullanılan süt matrislerinde protein değerlerine ait LSD testi sonuçları

Bakteri türü	Fermente süt matrisi çeşidi	N	Protein
<i>L. casei</i>	Bezelye	2	4,52 ^d
	Kuru Fasulye	2	4,54 ^{cd}
	Maş Fasulyesi	2	5,18 ^a
	Börülce	2	4,74 ^{bcd}
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Bezelye	2	4,88 ^b
	Kuru Fasulye	2	4,67 ^{bcd}
	Maş Fasulyesi	2	4,76 ^{bc}
	Börülce	2	4,74 ^{bcd}
	ANOVA		
	Fermente süt matrisi çeşidi	7	**
	Hata	8	

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



Şekil 4. 9. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürleri kullanılan süt matrislerinde protein değerlerinin değişimi

Amino asit bileşimi

Proteinlerin yapı taşları olan amino asitler, esansiyel ve esansiyel olmayan olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Esansiyel amino asitler; lizin, lösin, izölösün, metionin, treonin, triptofan, fenilalanin, valin'dir. Esansiyel olmayan amino asitler ise alanin, glisin, arjinin, aspartik asit, sistein, sistin, glutamik asit, histidin, prolin, serin, trozin, glutamin'dir (Saldamlı ve Temiz 2007).

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterilerini ve baklagil unlarını içeren süt matriksinde fermentasyon sonucunda belirlenen amino asit kompozisyonu Çizelge 4.33'te verilmektedir.

Süt matriksleri incelendiğinde esansiyel amino asitlerden lizin ve lösin amino asitlerinin en yüksek değerleri *L. casei* + bezelye unu içeren süt matriksinde bulunmuştur. Esansiyel amino asitlerden izölösün amino asidi miktarı incelendiğinde en yüksek değer, *B. animalis* subsp. *lactis* + kuru fasulye unu ekstraktı içeren süt matriksinde bulunmuş, *L. casei* + kuru fasulye unu ekstraktı içeren süt matriksindeki izölösün miktarı onu takip etmiştir.

Protein sentezini başlatmaya yardımcı olan amino asitlerden metiyonin miktarları incelendiğinde en yüksek değer, *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterilerinin her ikisi için de, börülce unu içeren süt matriksi örneklerinde bulunmuştur. Diğer önemli amino asitleri üretmek için vücut tarafından kullanılan fenilalanin esansiyel amino asidi miktarları incelendiğinde en yüksek değer, *B. animalis* subsp. *lactis* ile fermente edilmiş kuru fasulye unu ekstraktında bulunmuştur. *L. casei* ile fermente edilmiş süt matriksleri içerisinde en yüksek değer ise maş fasulyesi unu ekstraktına ait bulunmuştur.

Esansiyel amino asitlerden valin amino asiti miktarları incelendiğinde en yüksek değer, *L. casei* ile fermente edilmiş maş fasulyesi unu içeren süt matriksinde bulunmuştur. *B. animalis* subsp. *lactis* ile fermente edilmiş süt matrikslerinde valin amino asiti miktarları tespit sınırının altında çıkmıştır.

L. casei ile fermente edilmiş ile süt matriksi örneklerindeki toplam amino asit miktarları incelendiğinde en yüksek değerlerin sırasıyla maş fasulyesi unu ve kuru fasulye unu ekstraktı içeren süt matrikslerinde olduğu tespit edilmiştir. *B. animalis* subsp. *lactis* ile fermente edilmiş süt matriksi örneklerindeki toplam amino asit miktarları incelendiğinde ise en yüksek değerlerin sırasıyla kuru fasulye ve börülce unu ekstraktı içeren süt matrikslerinde olduğu tespit edilmiştir. Fermantasyon işlemi sırasında proteinler kısmen peptidlere ve amino asitlere hidrolize olmaktadır. Laktik asit bakterilerinin proteolitik aktivitelerinin değişmesi, süt matrikslerinin amino asit kompozisyonunu değiştirebilmektedir.

Hussain ve Basahy (1998) yaptıkları çalışmada, börülce proteinlerinin en az 17 çeşit amino asitten oluştuğunu ve kükürt içeren amino asitlerinkinden daha yüksek miktarlarda valin, lösin, fenilalanin ve lisin gibi amino asitleri içerdiğini belirtmişlerdir.

Çizelge 4.33. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürleri kullanılan süt matrislerindeki amino asit değerleri ($\mu\text{g/g}$)

		Bakteri çeşidi											
		<i>L. casei</i>						<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>					
		Kontrol	İnülin	Bezelye	Kuru Fasulye	Maş Fasulyesi	Börülce	Kontrol	İnülin	Bezelye	Kuru Fasulye	Maş Fasulyesi	Börülce
Amino asit çeşidi ve miktarı ($\mu\text{g/g}$)	Arjinin	218,00	364,79	125,33	530,02	422,90	31,03	23,24	52,89	16,85	27,24	26,89	19,12
	Serin	144,89	89,90	276,44	95,78	411,55	27,07	7,36	141,99	178,28	21,03	16,69	73,10
	Glisin	535,67	435,21	803,79	428,84	1380,80	<LOD	34,58	223,53	200,77	635,40	385,08	293,84
	Alanin	86,53	16,96	269,65	21,94	418,96	<LOD	226,57	209,43	145,28	5,49	156,54	197,71
	Pirolin	137,52	36,49	699,52	45,03	577,19	<LOD	85,10	87,97	56,827	59,70	9,24	76,04
	Valin	14,78	33,00	304,58	33,12	187,82	10,58	<LOD	<LOD	<LOD	3,61	<LOD	<LOD
	Tirolin	20,04	17,55	143,49	19,61	229,01	19,27	31,12	28,48	23,53	25,77	37,91	24,13
	Metiyonin	489,25	502,23	31,58	481,81	59,67	535,61	725,71	678,55	409,32	575,80	518,98	814,50
	İzölösün	474,23	460,36	566,76	692,15	631,72	519,13	524,05	633,24	52,039	840,91	48,81	506,05
	Lösün	224,19	16,36	1225,80	7,36	1000,60	<LOD	3,61	3,61	9,24	<LOD	13,45	3,61
	Fenilalanin	11,11	6,99	85,62	6,42	136,67	11,00	42,91	10,82	30,88	246,70	7,36	41,04
	Tirozin	34,41	123,42	42,51	44,88	375,06	14,54	156,82	35,19	0,03	130,22	23,14	54,39
	Aspartik asit	<LOD	7,36	1,74	9,24	7,36	182,39	1,74	3,61	<LOD	28,56	1,73	7,36
	Glutamik asit	43,54	9,24	3,61	4,55	7,93	8,16	12,88	2,28	0,80	2,30	71,14	7,55
	Histidin	<LOD	1,29	<LOD	19,12	31,64	36,54	72,54	3,99	2,30	11,11	<LOD	5,49
	Lisin	<LOD	0,80	108,76	34,10	24,53	12,99	100,71	2,67	0,42	13,37	<LOD	0,42
Toplam	2434,2	2121,9	4689,2	2473,9	5903,4	1408,3	2048,9	2118,3	1126,6	2627,2	1316,9	2124,35	

LOD: En düşük dedeksiyon limiti

Toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde tayini

Baklagil tohumları, polifenoller, flavonoidler, antosiyaninler ve tanenler gibi çeşitli fitokimyasallar içermektedir (Jayathilake ve ark. 2018).

DPPH metodu, gıdaların toplam antioksidan aktivitesini değerlendirmek ve bileşiklerin hidrojen verici veya serbest radikal süpürücü gibi davranarak aktivitesini ölçmek amacıyla yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Kedare ve Singh 2011). *L. casei* kültürü kullanılarak üretilmiş fermente sütlerin DPPH yöntemine göre bulunan toplam antioksidan aktivite değerleri 3,76 ile 5,90 mg Trolox /100 g arasında bulunmuştur (Çizelge 4.34). En yüksek toplam antioksidan aktivite miktarı maş fasulyesi unu ekstraktı içeren fermente süt matriksinde görülmüştür.

Folin-Ciocalteu reaktifi ile toplam fenolik madde miktarı tayini ise tüm antioksidan çalışmalarında örnekteki fenolik içeriğin belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir ve bu tayinde en sık kullanılan standart bileşik gallik asittir (Mogalhaes ve ark. 2006). Çizelge 4.34'de fermente süt matrikslerinde toplam fenolik madde miktarı değerleri görülmektedir.

Çizelge 4.34. *L. casei* kültürü kullanılan süt matrikslerinde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerleri

Fermente süt matriksi çeşidi	Toplam antioksidan aktivite (mg Trolox /100 g) (DPPH)	Toplam fenolik madde (mg GAE /100 g)
Kontrol	4,86	5,77
İnülin	3,86	7,81
Bezelye	3,76	6,27
Kuru Fasulye	3,95	6,89
Maş Fasulyesi	5,90	7,01
Börülce	4,14	6,70
Minimum	3,76	5,77
Maksimum	5,90	7,81
Ortalama	4,41	6,74

L. casei kültürü kullanılan süt matrikslerinde toplam fenolik madde değerleri 5,77 ile 7,81 mg GAE /100 g arasında bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarı genel olarak birbirine benzer bulunmuştur (Çizelge 4.34).

Çizelge 4.35. *L. casei* kültürü kullanılan süt matrikslerinde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerlerine ait LSD testi sonuçları

Fermente süt matriksi çeşidi	N	Toplam antioksidan aktivite (mg Trolox /100 g) (DPPH)	Toplam fenolik madde (mg GAE /100 g)
Kontrol	3	4,86 ^{ab}	5,77 ^b
İnülin	3	3,86 ^b	7,81 ^a
Bezelye	3	3,76 ^b	6,27 ^b
Kuru Fasulye	3	3,95 ^b	6,89 ^{ab}
Maş Fasulyesi	3	5,90 ^a	7,01 ^{ab}
Börülce	3	4,14 ^b	6,70 ^{ab}
ANOVA			
Fermente süt matriksi çeşidi	5	**	*
Hata	12		

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

L. casei kültürü kullanılan süt matrikslerinde toplam antioksidan aktivite değerlerine dair varyans analizi sonuçlarına göre fermente süt matriksleri arasındaki sonuçların önemli olduğu saptanmıştır (p<0,01). Fermantasyon süresi tamamlanan örneklerin toplam antioksidan aktivite değerlerine ait LSD testi sonuçlarına göre en yüksek değer maş fasulyesi unu ekstraktı içeren örneklerde bulunmuştur (Çizelge 4.35).

Oksidatif stres, lipidlere, proteinlere ve DNA'ya zarar veren yüksek hücre içi oksijen radikalleri anlamına gelmektedir (Wang ve ark 2017b). Laktik asit bakterileri fermantasyon sırasında antioksidan bileşikler oluşturabilmektedir. *In vivo* ve *in vitro* olarak yapılan çalışmalarda farklı probiyotik suşlarının farklı antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüştür. *L. casei*'nin fermente edilmiş keçi sütlerinin antioksidan

miktarını arttırmak amacıyla kullanıldığı bir çalışmada, bu bakterinin yüksek antioksidatif etki gösteren bir tür olduğu belirtilmiştir (Zhang ve ark. 2011, Parrella ve ark. 2012).

L. casei kültürü kullanılan süt matrikslerinde toplam fenolik madde değerlerine dair varyans analizine göre, fermente süt matriksleri arasındaki sonuçların istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmış en yüksek değer *L. casei* + inülin içeren örnekte bulunmuştur (Çizelge 4.35, $p < 0,05$).

Çizelge 4.36. *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerleri

Fermente süt matriksi çeşidi	Toplam antioksidan aktivite (mg Trolox /100 g) (DPPH)	Toplam fenolik madde (mg GAE /100 g)
Kontrol	3,52	12,41
İnülin	2,56	10,91
Bezelye	1,94	6,28
Kuru Fasulye	3,67	6,59
Maş Fasulyesi	5,31	7,39
Börülce	4,57	7,95
Minimum	1,94	6,28
Maksimum	5,31	12,41
Ortalama	3,60	8,59

B. animalis subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinde DPPH yöntemine göre bulunan toplam antioksidan aktivite değerlerinin 1,94 ile 5,31 mg Trolox /100 g arasında, toplam fenolik madde değerlerinin ise 6,38 ile 12,41 mg GAE /100 g arasında olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.36).

B. animalis subsp. *lactis* kültürü kullanılarak üretilmiş fermente sütlerin toplam antioksidan aktivite değerlerine dair varyans analizi sonuçlarına göre fermente süt matriksleri arasındaki sonuçların istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır. Örneklerin toplam antioksidan aktivite değerlerine ait LSD testi sonuçlarına göre en yüksek değer maş fasulyesi unu ekstraktı içeren örneklerde bulunmuştur. (Çizelge 4.37, $p < 0,01$).

Çizelge 4.37. *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerlerine ait LSD testi sonuçları

Fermente süt matriksi çeşidi	N	Toplam antioksidan aktivite (mg Trolox /100 g) (DPPH)	Toplam fenolik madde (mg GAE /100 g)
Kontrol	3	3,52 ^c	12,41 ^a
İnülin	3	2,56 ^d	10,91 ^b
Bezelye	3	1,94 ^e	6,28 ^d
Kuru Fasulye	3	3,67 ^c	6,59 ^d
Maş Fasulyesi	3	5,31 ^a	7,39 ^c
Börülce	3	4,57 ^b	7,95 ^c
ANOVA			
Fermente süt matriksi çeşidi	5	**	**
Hata	12		

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

B. animalis subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinin toplam fenolik madde değerlerine dair varyans analizi sonuçlarına göre fermente süt matriksleri arasındaki sonuçların istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmış ve en yüksek değer kontrol örneğinde bulunmuştur (Çizelge 4.37, p<0,01).

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakteri kültürü kullanılarak üretilmiş fermente sütlerin varyans analizi sonuçlarına göre fermente süt matriksleri arasındaki sonuçların toplam antioksidan aktivite değerleri (p<0,01) ve toplam fenolik madde değerleri (p<0,05) için önemli olduğu saptanmıştır. Baklagil unları ilave edilen fermente süt matrikslerinde en yüksek antioksidan aktivite değerinin; *L. casei* + maş fasulyesi unu, en

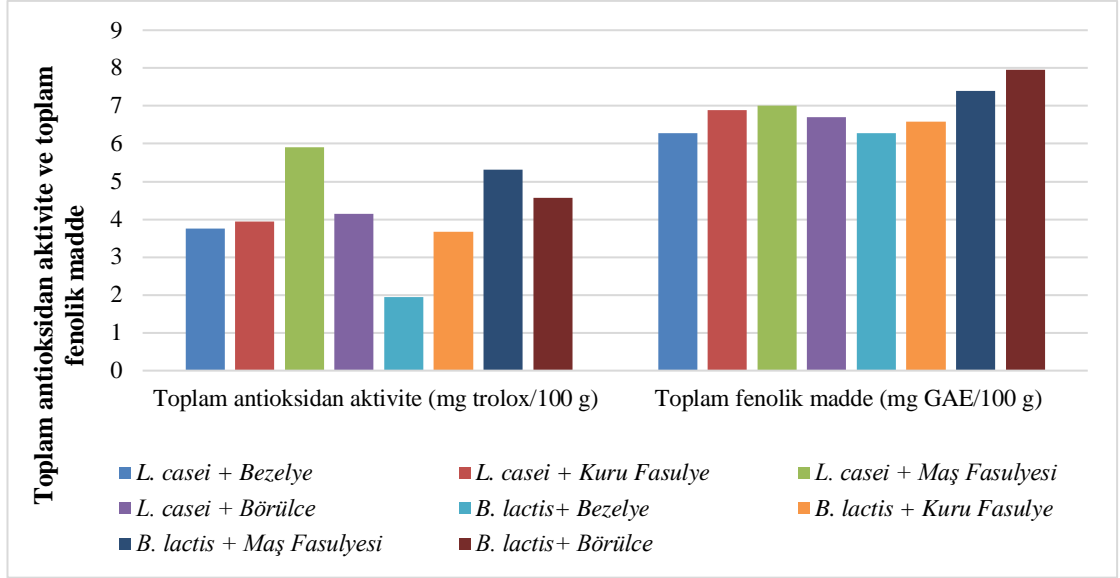
yüksek fenolik madde değerinin; *B. animalis* subsp. *lactis* + börülce unu örneklerine ait olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.38).

Çizelge 4.38. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürleri kullanılan süt matrikslerinde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerlerine ait LSD testi sonuçları

Bakteri türü	Fermente süt matriksi çeşidi	N	Toplam antioksidan aktivite (mg Trolox /100 g) (DPPH)	Toplam fenolik madde (mg GAE /100 g)
<i>L. casei</i>	Bezelye	3	3,76 ^{cd}	6,27 ^b
	Kuru Fasulye	3	3,95 ^{cd}	6,89 ^{ab}
	Maş Fasulyesi	3	5,90 ^a	7,01 ^{ab}
	Börülce	3	4,14 ^{cd}	6,70 ^b
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Bezelye	3	1,94 ^e	6,28 ^b
	Kuru Fasulye	3	3,67 ^d	6,59 ^b
	Maş Fasulyesi	3	5,31 ^{ab}	7,39 ^{ab}
	Börülce	3	4,47 ^{bc}	7,95 ^a
ANOVA				
	Fermente süt matriksi çeşidi	7	**	*
	Hata	16		

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

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterilerinin 48 saatlik fermantasyonu sonucunda örneklerin toplam antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde miktarları Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürleri kullanılan süt matrislerinde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerlerinin değişimi

Tekstürel analizler

Fermente süt ürünlerinin kalitesinin belirlenmesinde en önemli parametrelerden biri olan sıkılık yani firmness değeri, ilk sıkıştırmada uygulanan maksimum kuvvet veya gıda maddesinin deformasyonu için gerekli olan kuvvet olarak tanımlanmaktadır (Izadi ve ark. 2015). Tekstür analiz grafiğinde pozitif eğrinin altında kalan alanın hesaplanmasıyla elde edilen konsistens değeri, ürünün yoğunluğu hakkında bilgi vermektedir (Yildiz ve Ozcan 2019).

Maksimum negatif kuvvet olarak tanımlanan iç yapışkanlık değeri, ürünün iç bağlarındaki kuvvet ve yapısal bütünlük ile ilişkilendirilmektedir. Tekstür analizinde ikinci sıkıştırma sonrası oluşan pozitif alanın, birinci sıkıştırma sonucu oluşan pozitif alana oranlanması ile iç yapışkanlık değeri elde edilmektedir (Peng ve ark. 2009, Delikanli ve Ozcan 2014). Viskozite indeksi; fermantasyon sırasında meydana gelen fizikokimyasal ve biyokimyasal değişimlere bağlı olarak kazein misellerinin bir araya gelmesi ve jel oluşumu ile ilişkilendirilmektedir (Singh ve Kim 2009).

L. casei probiyotik kültürü kullanılan fermente süt matriksindeki sıklık değerleri depolama süresince 19,75 g ile 25,29 g arasında, konsistens değerleri 124,47 ile 183,80 gs arasında, iç yapışkanlık değerleri; -9,99 g ile -15,24 g arasında, viskozite indeksi değerleri; -3,29 gs ile -8,68 gs arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.39).

Fermente süt matrikslerinin tekstürel özelliklerine ait varyans analizi sonuçlarına göre, örneklerin sıklık, konsistens, iç yapışkanlık ve viskozite indeksi değerleri, fermente süt matriksi çeşidi, depolama süresi farklılıkları ve fermente süt matriksi çeşidi x depolama süresi interaksiyonu açısından önemli bulunmuştur (Çizelge 4.40, $p < 0,01$).

LSD testi sonuçlarına göre *L. casei* kültürü kullanılan ve genel olarak börülce unu ilave edilen fermente süt matriksi örneklerinin sıklık, konsistens ve viskozite indeksi değerleri diğer örneklere kıyasla yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.40).

Baklagil proteinlerinin temel amino asitleri ve biyoaktif peptidleri içermelerinin yanı sıra, su tutma, yağ bağlama, köpürme ve jelleşme gibi önemli fonksiyonlara sahip olmaları, çeşitli gıdaların geliştirilmesinde kullanılabilmelerine imkan tanımaktadır (Boye ve ark. 2010). Yapılan bu çalışmada, baklagil unları ilaveli süt matrikslerinde tekstürel parametreler depolama boyunca artmaya devam etmiştir, bu durumun baklagil proteinleri ile su arasındaki hidrofilik etkileşimler nedeniyle su tutma kapasitesinin artmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Çizelge 4.39).

B. animalis subsp. *lactis* probiyotik kültürü kullanılan fermente süt matriksindeki sıklık değerleri depolama süresince 13,14 g ile 21,05 g arasında, konsistens değerleri 94,46 ile 153,00 gs arasında, iç yapışkanlık değerleri; -6,43 g ile -12,98 g arasında, viskozite indeksi değerleri; -0,49 gs ile -6,00 gs arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.41).

Çizelge 4.39. *L. casei* kültürü kullanılan süt matrislerinin tekstürel özellikleri

Fermente süt matrisi çeşidi	Sıklık (g)			Konsistens (gs)			İç yapışkanlık (g)			Viskozite İndeksi (gs)		
	1.gün	14.gün	28.gün	1.gün	14.gün	28.gün	1.gün	14.gün	28.gün	1.gün	14.gün	28.gün
Kontrol	21,24	21,04	21,66	157,41	152,86	159,58	-10,88	-12,97	-14,09	-4,06	-5,98	-6,91
İnülin	21,58	19,89	19,75	160,20	150,06	150,38	-9,99	-12,82	-12,01	-3,29	-6,27	-5,88
Bezelye	24,54	21,90	21,69	173,42	157,26	162,48	-11,40	-13,73	-13,80	-5,15	-6,94	-7,36
Kuru Fasulye	21,67	21,03	25,29	162,00	160,19	183,80	-14,20	-13,85	-15,24	-5,82	-6,64	-8,68
Maş Fasulyesi	21,57	22,51	22,82	160,47	157,80	168,79	-10,78	-13,18	-13,49	-4,24	-6,46	-7,49
Börülce	24,87	22,77	24,23	177,42	173,04	175,31	-11,71	-14,72	-15,24	-4,86	-7,40	-8,12
Minimum	21,24	19,89	19,75	157,41	124,47	150,38	-9,99	-12,82	-12,01	-3,29	-5,98	-5,88
Maksimum	24,87	22,77	25,29	177,42	173,04	183,80	-14,20	-14,71	-15,24	-5,82	-7,40	-8,68
Ortalama	22,70	21,48	22,56	165,15	158,53	166,72	-11,49	-13,54	-13,98	-4,57	-6,62	-7,41

Çizelge 4.40. *L. casei* kültürü kullanılan süt matrikslerinin tekstürel özelliklerine ait LSD testi sonuçları

Fermente süt matriksi çeşidi	N	Sıklık (g)	Konsistens (gs)	İç yapışkanlık (g)	Viskozite indeksi (gs)
Kontrol	9	21,31 ^{bc}	156,62 ^{cd}	-12,65 ^{bc}	-5,65 ^{ab}
İnülin	9	20,40 ^c	153,55 ^d	-11,60 ^c	-5,15 ^b
Bezelye	9	22,71 ^{ab}	164,39 ^{bc}	-12,98 ^{abc}	-6,48 ^{ab}
Kuru Fasulye	9	22,67 ^{ab}	168,66 ^{ab}	-14,43 ^a	-7,05 ^a
Maş Fasulyesi	9	22,30 ^b	162,35 ^{bcd}	-12,48 ^{bc}	-6,06 ^{ab}
Börülce	9	23,96 ^a	175,26 ^a	-13,89 ^{ab}	-6,79 ^a
Depolama süresi					
1	18	22,58 ^a	165,15 ^{ab}	-11,49 ^b	-4,57 ^b
14	18	22,57 ^a	158,53 ^{ab}	-13,54 ^a	-6,62 ^a
28	18	21,52 ^a	166,72 ^a	-13,98 ^a	-7,40 ^a
ANOVA					
Fermente süt matriksi çeşidi (F)	5	**	**	**	**
Depolama süresi (D)	2	**	**	**	**
F x D	10	**	**	**	**
Hata	36				

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

Fermente süt matrikslerinin tekstürel özelliklerine ait varyans analizi sonuçlarına göre, örneklerin sıklık, konsistens, iç yapışkanlık ve viskozite indeksi değerleri, fermente süt matriksi çeşidi, depolama süresi farklılıkları ve fermente süt matriksi çeşidi x depolama süresi interaksyonu açısından önemli bulunmuştur (izelge 4.42, $p<0,01$).

LSD testi sonuçlarına göre *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan ve maş fasulyesi unu ilave edilen fermente süt matriksi örneklerinin sıklık, konsistens, iç yapışkanlık ve viskozite indeksi değerleri, diğer örneklerle kıyasla yüksek bulunmuştur. Depolama süreleri boyunca tüm örneklerin sıklık, konsistens ve viskozite indeksi değerlerinin 14. günde azaldığı, 28. günde arttığı saptanmıştır (izelge 4.42).

Baklagil unlarındaki diyet lifi ve protein içeriklerindeki farklılıklar, jel yapısını etkilemektedir. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinin tekstürel özelliklerindeki değişim Şekil 4.11’de verilmektedir.

Proteinler arasındaki disülfid köprüleri, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler, jel yapısının oluşturmasında ve baklagil jellerinin reolojik özellikleri üzerinde etkili olmaktadır. Chihi ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada, ısıl işlem uygulaması sonrasında jel oluşununun protein çeşidinden daha az etkilenmesinin nedeninin, baklagil proteinleri ve süt proteinleri arasındaki bağ oluşumundan kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir. Protein kmeleşmelerine ısı etkisini araştırdıkları bu çalışmalarında, 85°C’lik ısıl işlemin α -laktoglobulin ve bezelye globulinleri arasında protein kmeleşmelerine neden olduğunu tespit etmişlerdir. Oluşan α -laktoglobulin-bezelye globulin agregatlarının yeni disülfid bağları ve kovalent olmayan etkileşimler içerdiğini de belirtmişlerdir.

L. casei ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakteri kltrleri kullanılarak üretilmiş fermente sütlerin tekstürel özelliklerine ait LSD testi sonuçlarına göre; i yapışkanlık ve viskozite indeksi değerleri depolama süresince artmıştır. En yüksek sıklık ve konsistens değerleri *L. casei* + börülce unu içeren örneklerde, en yüksek iç yapışkanlık ve viskozite değerleri ise *L. casei* + kuru fasulye unu içeren örneklerde bulunmuştur (izelge 4.43).

Çizelge 4.41. *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinin tekstürel özellikleri

Fermente süt matriksi çeşidi	Sıklık (g)			Konsistens (gs)			İç yapışkanlık (g)			Viskozite indeksi (gs)		
	1.gün	14.gün	28.gün	1.gün	14.gün	28.gün	1.gün	14.gün	28.gün	1.gün	14.gün	28.gün
Kontrol	19,12	14,13	14,41	126,52	103,71	103,27	-7,75	-9,47	-8,48	-2,70	-0,76	-0,53
İnülin	14,98	13,54	21,05	111,54	100,00	110,09	-7,68	-9,61	-6,43	-3,25	-0,61	-3,26
Bezelye	15,44	13,23	13,14	113,99	98,27	94,46	-8,20	-9,09	-8,60	-2,99	-0,49	-1,75
Kuru Fasulye	18,79	14,84	16,39	141,59	109,28	120,39	-9,21	-10,27	-11,19	-2,69	-1,44	-3,07
Maş Fasulyesi	20,82	17,76	18,23	153,00	134,88	143,23	-10,17	-12,98	-12,08	-2,49	-5,85	-6,00
Börülce	19,95	14,88	17,77	149,60	112,79	132,81	-9,68	-10,13	-10,83	-3,34	-1,88	-4,08
Minimum	14,98	13,23	13,14	111,54	98,27	94,46	-7,68	-9,09	-6,43	-2,49	-0,49	-0,53
Maksimum	20,82	17,76	21,05	153,00	134,88	143,23	-10,17	-12,98	-12,08	-3,34	-5,85	-6,00
Ortalama	18,18	14,73	16,90	132,71	109,82	117,34	-8,78	-10,26	-9,60	-2,91	-2,17	-3,15

Çizelge 4.42. *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinin tekstürel özelliklerine ait LSD testi sonuçları

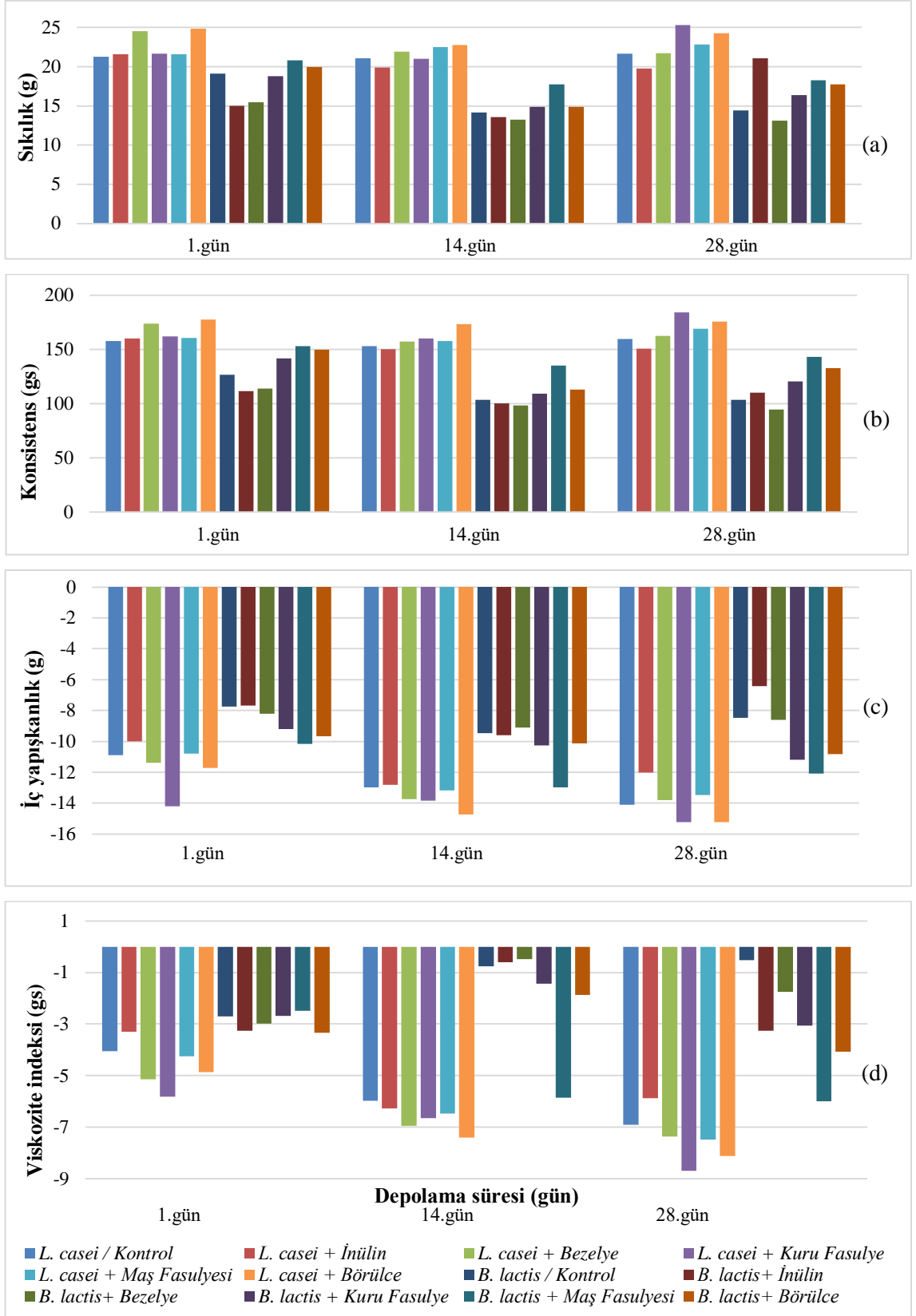
Fermente süt matriksi çeşidi	N	Sıklık (g)	Konsistens (gs)	İç yapışkanlık (g)	Viskozite indeksi (gs)
Kontrol	9	15,88 ^c	111,17 ^d	-8,56 ^{bc}	-1,33 ^c
İnülin	9	16,52 ^c	107,21 ^{de}	-7,91 ^c	-2,37 ^{bc}
Bezelye	9	13,94 ^d	102,24 ^e	-8,63 ^{bc}	-1,75 ^{bc}
Kuru Fasulye	9	16,67 ^{bc}	123,75 ^c	-10,22 ^{ab}	-2,40 ^{bc}
Maş Fasulyesi	9	18,93 ^a	143,70 ^a	-11,74 ^a	-4,78 ^a
Börülce	9	17,53 ^b	131,73 ^b	-10,21 ^{ab}	-3,10 ^{ab}
Depolama süresi					
1	18	18,18 ^a	132,71 ^a	-8,78 ^b	-2,91 ^{ab}
14	18	14,73 ^c	109,82 ^b	-10,26 ^a	-1,83 ^b
28	18	16,83 ^b	117,34 ^b	-9,60 ^{ab}	-3,11 ^a
ANOVA					
Fermente süt matriksi çeşidi (F)	5	**	**	**	**
Depolama süresi (D)	2	**	**	**	**
F x D	10	**	**	**	**
Hata	36				

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

Çizelge 4.43. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrikslerinin tekstürel özelliklerine ait LSD testi sonuçları

Bakteri türü	Fermente süt matriksi çeşidi	N	Sıklık (g)	Konsistens (gs)	İç yapışkanlık (g)	Viskozite indeksi (gs)
<i>L. casei</i>	Bezelye	9	22,71 ^{ab}	164,39 ^b	-12,98 ^{abc}	-6,48 ^a
	Kuru Fasulye	9	22,66 ^{ab}	168,66 ^{ab}	-14,43 ^a	-7,05 ^a
	Maş Fasulyesi	9	22,30 ^b	162,35 ^b	-12,48 ^{bc}	-6,06 ^{ab}
	Börülce	9	23,96 ^a	175,26 ^a	-13,89 ^{ab}	-6,79 ^a
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Bezelye	9	13,94 ^e	102,24 ^e	-8,63 ^e	-1,74 ^c
	Kuru Fasulye	9	16,67 ^d	123,75 ^d	-10,22 ^{de}	-2,40 ^c
	Maş Fasulyesi	9	18,91 ^c	143,70 ^c	-11,74 ^{cd}	-4,77 ^b
	Börülce	9	17,53 ^d	131,72 ^d	-10,21 ^{de}	-3,10 ^c
	Depolama süresi					
	1	24	20,95 ^a	153,94 ^a	-10,67 ^b	-3,94 ^b
	14	24	19,95 ^b	137,94 ^c	-12,24 ^a	-4,63 ^b
	28	24	18,61 ^c	147,66 ^b	-12,56 ^a	-5,82 ^a
	ANOVA					
	Fermente süt matriksi çeşidi (F)	7	**	**	**	**
	Depolama süresi (D)	2	**	**	**	**
	F x D	14	**	**	**	**
	Hata	48				

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



Şekil 4.11. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* kültürü kullanılan süt matrislerinin depolama süresince sıklık (g), konsistens (gs), iç yapışkanlık (g), ve viskozite indeksi (gs) değerleri

5. SONUÇ

Fonksiyonel gıdaların beslenmede yer alması, kronik hale gelen sağlık sorunlarının çözülmesine yardımcı olmakta, tüketicilerin terapötik bileşenlere olan ilgisini arttırmakta ve fonksiyonel gıda pazarındaki büyümeyi teşvik etmektedir. Bununla birlikte son yıllarda bu gıdaların etkileri üzerine yapılan çalışmalarda artış görülmekle beraber içeriklerindeki aktif bileşenlerin biyoyararlılıkları üzerine yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulduğu görülmektedir.

Fonksiyonel özelliğe sahip gıda formülasyonlarının üretiminde ürün matriksleri, gıdaların duyuşal özellikleri ve tüketicilerin kabul düzeyleri esas alınarak değiştirilmektedir. Sağlığa yararlı bileşenleri içeren gıdalar insanların beslenme düzenine dahil edilerek, bağırsak mikrobiyotasındaki yararlı bakterilerin çeşitliliğinin ve gelişiminin arttırılması hedeflenmektedir. Metabolik olarak vücutta meydana gelen değişikliklerin ve içerisinde bulunduğu konakçı hücreyle olan etkileşimlerinin daha iyi anlaşılması ile insan sağlığına etkilerinin daha da arttırılacağı düşünölmektedir.

Gıda endüstrisinde geleneksel gıda işleme yöntemlerinin kullanılması, karmaşık gıda matrikslerindeki biyoaktif bileşenlerin işlevselliğinin korunması açısından zorluklar yaratabilmektedir. Probiyotik gıda üretimlerindeki en önemli gereksinim, gıda işleme ve depolama sırasında probiyotik mikroorganizma sayısının ve beklenen terapötik etkinin korunmasıdır. Bu etkinin sağlanabilmesi için prebiyotiklerden yararlanılmaktadır. Genel olarak prebiyotikler hakkında yapılacak çalışmaların, kronik sağlık bozuklukları yaşıyan bireylerde ya da yaşlılar gibi spesifik popölasyon gruplarında fayda sağlamak amaçlı koruyucu diyetlerin geliştirilmesi üzerine olacağı düşünölmektedir. İnsan bağırsak sistemindeki bireysel farklılıklar sebebiyle, çok işlevli diyet kavramının, metabolik sistem üzerinde daha etkili olacağı öngörülmektedir. Gelecekteki prebiyotiklerin, bağırsak mikrobiyotasını, insölin seviyelerini ve KZYA profilini istenen yönde değiştirebilmek, sistemik enflamasyonu ve oksidatif stresi azaltabilmek, midenin boşalma süresini arttırmak ve doygunluk kazandırmak gibi özelliklerine ilaveten spesifik özellikler kazandırılmış olması beklenmektedir.

Baklagillerin spesifik bileşenlerinin kullanıldığı fonksiyonel gıda sistemleri hakkında yayımlanmış çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Baklagiller yüksek protein, karbonhidrat, diyet lifi, vitamin, mineral ve fitokimyasal madde bileşenleri ile besleyici değeri yüksek gıdalardır. Bu içerikleri ile potansiyel prebiyotik kaynağı olabilecekleri gibi probiyotik bakterilerin gelişimi için gerekli biyoaktif bileşikler de bulundurmaktadırlar.

Bağırsak mikrobiyotası tarafından fermente edilen prebiyotikler, sağlık üzerine faydaları olan bakterilerin aktivitesini uyarmakta ve gelişimine fayda sağlamaktadır. Prensipten olarak fermente edilebilen tüm diyet lifleri potansiyel prebiyotik bileşenlerdir. Bu sebeple, bu çalışmada çeşitli baklagil unlarının (bezelye unu, kuru fasulye unu, maş fasulyesi unu ve börülce unu) probiyotik bakterilerin gelişimi üzerine etkisi *in vitro* koşullarda ve süt modelinde araştırılmıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis*' in gelişimi üzerine baklagil unlarının etkisi *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Bu amaçla karbonhidrat içermeyen negatif kontrol; %2 glikoz ve %2 inülin içeren pozitif kontrol ve %2 oranında baklagil (bezelye, kuru fasulye, maş fasulyesi ve börülce) unları ekstraktları içeren sıvı besi ortamlarında bakteri fermantasyonu ve gelişimi saptanmıştır. 48 saatlik fermantasyon süresince hücre yoğunluğu (OD₆₅₀), pH, probiyotik bakteri sayısı, prebiyotik aktivite sayısı (PAS) ile laktik asit ve KZYA miktarları belirlenmiştir.

Baklagil unlarının *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterileri tarafından *in vitro* koşullardaki fermantasyonunun hücre yoğunluğu ve asitlik gelişimi üzerinde etkili olduğu, en yüksek OD₆₅₀ ve en düşük pH değerlerinin fermantasyonun 48. saatinde ölçüldüğü saptanmıştır. En yüksek probiyotik mikroorganizma sayısının *L. casei* için börülce unu içeren besi yeri ortamında, *B. animalis* subsp. *lactis* için ise kuru fasulye içeren besi yeri ortamında olduğu belirlenmiştir. Örnekler arasındaki farklılıkların besi ortamlarındaki monosakkaritlerin ve peptidlerin kompozisyonlarının değişiminden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Prebiyotik aktivite sayısına (PAS) ait bulgular incelendiğinde *L. casei*'nin bezelye ve kuru fasulye unu içeren ortamlardaki, *B. animalis* subsp. *lactis*'in ise maş fasulyesi ve börülce unu içeren ortamlardaki PAS değerleri daha

yüksek bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ilave edilen baklagil unlarının probiyotik bakterilerin gelişimlerini destekleyen substratlara sahip olduğu sonucu ortaya çıkmıştır.

Besi ortamlarında *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* tarafından üretilen laktik asit ve KZYA miktarları incelendiğinde genel olarak *L. casei*'nin *B. animalis* subsp. *lactis*'e göre daha fazla miktarda laktik asit ve toplam KZYA ürettiği tespit edilmiştir. Baklagil unları karşılaştırıldığında ise her iki bakteri için de en yüksek değerin, kuru fasulye unu içeren besi ortamında elde edildiği belirlenmiştir. Bakterilerin oluşturdukları metabolitlerdeki farklılıkların, besi ortamlarındaki karbon kaynaklarının probiyotik bakteriler tarafından farklı şekilde kullanımlarından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında; rekonstitüe edilen (%11,11 KM) yağsız sütlere %2 baklagil unu ekstraktları (bezelye unu, kuru fasulye unu, maş fasulyesi unu ve börülce unu) ve %3 oranında *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* probiyotik bakteri kültürleri ayrı ayrı ilave edilerek fermantasyonu izlemek için, süt modeli oluşturulmuştur. Depolama süresinin 1., 14., ve 28. günlerinde fermente süt matrislerinde probiyotik bakteri sayımı, pH analizi, renk tayini ve tekstürel analizler yapılmış, depolama başlangıcında (1. gün) ise protein, amino asit, toplam antioksidan aktivite ve fenolik madde miktarları ürün analizi olarak tespit edilmiştir.

Depolama süresi boyunca baklagil unları ilaveli fermente süt matrisinde *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* sayılarının tüm örnekler için ($>8.330 \log_{10}$ kob/g) olduğu ve biyoterapötik seviyede kaldığı saptanmıştır. *L. casei* ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterisi için, bakteri sayısındaki artış ve pH'daki düşüş korelasyon içinde bulunmuştur. *L. casei* sayısı baklagil unları içeren örneklerde bakterilerin farklı fermantasyon özelliklerine bağlı olarak *B. animalis* subsp. *lactis*'e göre daha yüksek saptanmıştır. Fermente süt matrisleri renk özellikleri açısından incelendiğinde *L. casei* ile fermente edilmiş örneklerin L^* (parlaklık) değerlerinin daha yüksek olduğu, *B. animalis* subsp. *lactis* ile fermente edilmiş örneklerin ise b^* (+b: sarılık) değerlerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Fermente sütlerin protein değerleri ve toplam amino asit bileşimleri incelendiğinde en yüksek değerin *L. casei* + maş fasulyesi unu içeren örnekte olduğu bulunmuştur. Bu sonucun baklagil unlarının bileşiminden ve kullanılan probiyotik bakterilerin proteolitik özelliklerindeki farklılıklardan kaynaklandığı dşnlmektedir.

Toplam antioksidan aktivite değerleri incelendiğinde her iki bakteri için de maş fasulyesi içeren süt matrislerinin antioksidan içeriklerinin en yüksek olduğu ve *B. animalis* subsp. *lactis* + börülce örneğinin toplam fenolik madde miktarının en yüksek olduğu belirlenmiştir. Fermente süt matrisleri tekstürel özellikler açısından karşılaştırdığında *L. casei* içeren rnekerin sıklık, konsistens, iç yapışkanlık ve viskozite indeksi parametrelerinin genel olarak daha yüksek değerlere ulaştığı ancak tekstürel açıdan belirgin bir değişimin olmadığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, baklagil unları ilavesi probiyotik bakteri gelişimini ve aktivitesini arttırarak fermente sütlerdeki probiyotik bakteri sayısının terapötik etkinin görülebilmesi için gerekli seviyede (en az 6-7 log₁₀ kob/g) tutulmasını sağlamıştır. Bu anlamda teknolojik özellikleri üzerinde olumlu etkilerinin yanı sıra gastrointestinal sistemde arzu edilen mikrobiyotanın oluşturması için probiyotik mikroorganizmaları teştvik ve stimüle etmesi sebebiyle biyoaktif bileşenleri içeren baklagil unlarının yenilikçi fonksiyonel süt ürünlerinin geliştirilmesinde prebiyotik kaynak olarak kullanılabileceği dşnlmektedir.

Bununla birlikte baklagil unlarının süt matrislerine ilavesinde kullanılan konsantrasyon miktarı, ısıtma ve denatürasyon sıcaklığı ile jelleşme özelliklerinin de optimizasyonu gerekmektedir. Ayrıca baklagil unlarının ürün bileşimlerinde kullanımında teknolojik ve tekstürel özelliklerin geliştirmesi amacıyla stabilizatörlerin de ilaveten kullanımı önerilebilir.

Baklagil unlarının prebiyotik potansiyeli ve probiyotik bakterilerin canlılığını sürdürmesi, gelişmesi ve kolonizasyon etkisinin *in vitro* ve *in vivo* canlı modellerinde ve farklı sistem ve koştullarda araştırılması, gelecekteki çalışmalardan elde edilecek sonuçlarla desteklenmelidir. Ayrıca, probiyotik ürünlerin stabilitesinin arttırılması için, genomik, proteomik, transkriptomik ve metabolomik gibi “-omic” tekniklerin de

geliştirilmesiyle birlikte stres toleransının moleküler temelleri üzerinde çalışmalar da önemlidir. Buna ilaveten, mikroenkapsülasyon, hücre koruyucu ajanlar, büyümeyi teşvik eden gıda bileşenleri, antioksidanlar, oksijen bariyerli ambalaj malzemeleri ve depolama koşullarının modifikasyonu gibi yeni teknolojilerin de gıda sistemlerinin düzenlenmesinde kullanılmasının probiyotiklerin canlılığını sürdürerek fonksiyonel süt ürünlerinin geliştirilmesinde kullanabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abd El-Salam, M.H., Hippen, A.R., El-Shafie, K. et al. 2011.** Preparation and properties of probiotic concentrated yoghurt (labneh) fortified with conjugated linoleic acid. *International Journal of Food Science & Technology*, 46: 2103-2110.
- Abdollahzadeh, S. M., Zahedani, M. R., Rahmdel, S., Hemmati, F., Mazloomi, S. M. 2018.** Development of *Lactobacillus acidophilus* fermented milk fortified with date extract. *LWT-Food Science and Technology*, 98: 577-582.
- Adebo, O.A., Njobeh, P.B., Adebisi, J.A., Gbashi, S., Phoku, J,Z, Kayitesi, E. 2017.** Fermented pulse-based food products in developing nations as functional foods and ingredients: functional food - Improve Health through Adequate Food, Editor: María Chávarri Hueda, *IntechOpen*, pp. 77-101.
- Aguilera, Y., Estrella, I., Benitez, V., Esteban, R.M., Martin-Cabrejas, M.A. 2011.** Bioactive phenolic compounds and functional properties of dehydrated bean flours. *Food Research International*, 44: 774-780.
- Ahmad, A., Khalid, S. 2018.** Therapeutic aspects of probiotics and prebiotics: Diet, Microbiome and Health, Editors: Holban, A. M., Grumezescu, A.M., Academic Press, London, UK, pp. 53-91.
- Ahmadova, A., Todorov, S.D., Choiset, Y., Rabesona, H., Zadi, T.M., Kuliyeu, A., Chobert, J.M. Haertle, T. 2013.** Evaluation of antimicrobial activity, probiotic properties and safety of wild strain *Enterococcus faecium* AQ71 isolated from azerbaijani motal cheese. *Food Control*, 30: 631-41.
- Aiking, H. 2011.** Future protein supply. *Trends in Food Science & Technology*, 22:112-120.
- Akaerue, B.I., Onwuka, G.I. 2010.** Evaluation of the yield, protein content and functional properties of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) protein isolates as affected by processing. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9: 728-735.
- Akin, Z., Ozcan, T. 2017.** Functional properties of fermented milk produced with plant proteins. *Food Science and Technology*, 86: 25-30.
- Aktas, A.H., Sen, S., Yilmazer, M., Cubuk, E. 2005.** Determination of carboxylic acids in apple juice by RP HPLC, *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 24: 1-6.
- Amin, M., Jorfi, M., Khosravi, A.D., Samarbafzadeh, A.R., Farajzadeh-Sheikh, A. 2009.** Isolation and identification of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* from plants by PCR and detection of their antibacterial activity. *International Journal of Biological Sciences*, 9: 810-814.
- Amund, O.D. 2016.** Exploring the relationship between exposure to technological and gastrointestinal stress and probiotic functional properties of lactobacilli and bifidobacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 62: 715-725.
- Anadon, A., Martinez, L., Martinez, M.A. 2006.** Probiotics for animal nutrition in the European Union Regulation and Safety Assesment. *Regul Toxicol Pharmacol.*, 45: 91-95.
- Anonim, 2002.** Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada, https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf (Erişim Tarihi: 18.09.2019).

- Anonim, 2009.** Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tebliğ No: 2009/25-27143, Ankara.
- Anonim, 2016.** Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri, www.tuik.gov.tr.
- Anonim, 2018.** 2018 Yılı Bakliyat Sektör Raporu, Türkiye Toprak Mahsülleri Ofisi Genel Müdürlüğü <http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/bakliyatsektorraporu2018.pdf> (Erişim Tarihi: 22.10.2019).
- Anprung, P., Sangthawan, S. 2012.** Prebiotic activity and bioactive compounds of the enzymatically depolymerized Thailand-grown mangosteen aril. *Journal of Food Research*, 1: 268-276.
- AOAC 2000.** Official methods of analysis of association of official analytical chemists, 17th edn. Gaithersburg, MD Method 992.23.
- AOAC 2012.** Official methods of analysis. 19th Association of Official Analytical of Chemist. Arlington: VA.
- Aragon-Alegro, L. C., Alarcon-Alegro, J. H., Cardarelli, H. R., Chiu, M. C., Saad, S. M. 2007.** Potentially probiotic and synbiotic chocolate mousse. *LWT Food Sci. Technol.*, 40: 669-675.
- Arihara, K. 2006.** Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*, 74: 219-229.
- Arora, M., Baldi, A. 2017.** Selective identification and characterization of potential probiotic strains: a review on comprehensive polyphasic approach. *Applied Clinical Research, Clinical Trials & Regulatory Affairs*, 4: 60-76.
- Awika, J.M., Duodu, K.G. 2017.** Bioactive polyphenols and peptides in cowpea (*Vigna unguiculata*) and their health promoting properties: A review. *Journal of Functional Foods*, 38: 686-697.
- Aydın, M. 2000.** Endodontik mikrobiyoloji: Endodonti, Editör: Alaçam, T., Barış Yayınevi, Ankara, Türkiye, s. 313-391.
- Baglatzi, L., Gavrieli, S., Stamouli, K., Zachaki, S., Favre, L., Pecquet, S., et al. 2016.** Effect of infant formula containing a low dose of the probiotic *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 on immune and gut functions in C-section delivered babies: A pilot study. *Clin. Med. Insights Pediatr*, 10: 11-19.
- Baquerizo-Nole, K. L. B., Yim, E., Keri, J. E. 2014.** Probiotics and prebiotics in dermatology. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 71: 814-821.
- Balthazar, C. F., Silva, H. L., Esmerino, E. A., Rocha, R. S., Moraes, J., Carmo, M. A. ve diğ. 2018.** The addition of inulin and *Lactobacillus casei* 01 in sheep milk ice cream. *Food Chemistry*, 246: 464-472.
- Bandyopadhyay, B., Mandal, N.C. 2014.** Probiotics, prebiotics and synbiotics - in health improvement by modulating gut microbiota: the concept revisited. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3: 410-420.
- Barat, A., Ozcan, T. 2018.** Growth of probiotic bacteria and characteristic of fermented milk containing fruit matrices. *International Journal of Dairy Technology*, 71: 120-129.
- Beelen, J., de Roos, N.M., de Groot, L.C.P.G.M. 2017.** Protein enrichment of familiar foods as an innovative strategy to increase protein intake in institutionalized elderly. *The journal of nutrition, Health & Aging*, 21, 173-179.
- Ben-Harb, S., Saint-Eve, A., Panouillé, M., Souchon, I., Bonnarme, P., Dugat-Bony, E., Irlinger, F. 2019.** Design of microbial consortia for the fermentation of pea-protein enriched emulsions. *International Journal of Food Microbiology*, 293:124-136.

Bertazzoni, M.E., Benini, A., Marzotto, M., Sbarbati, A., Ruzzenente, O., Ferrario, R., Hendriks, H., Dellaglio, F. 2004. Assessment of novel probiotic *Lactobacillus casei* strains for the production of functional dairy foods. *Int. Dairy J.*, 14: 723-736.

Betoret-Valls, M.E., Betoret-Valls, N., Vidal-Brotons, D.J., Fito-Maupoey, P. 2011. Functional foods development: trends and technologies. *Trends in Food Science and Technology*, 22: 498-508.

Bhat, Z.F., Bhat, H. 2011. Milk and dairy products as functional foods: a review. *International Journal of Dairy Science*, 6: 1-12.

Bhuita, T.L., Saurabh, K. 2017. Evaluation of different varieties of pea (*Pisum sativum* L.) for yield and quality under late sown conditions in Eastern region. Evaluation of different varieties of pea (*Pisum sativum* L.) for yield and quality under late sown conditions in Eastern region. *Crop Res.*, 52: 176-179.

Bigliardia, B., Galati, F. 2013. Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31: 118-129.

Birch, C. S., Bonwick, G.A. 2019. Ensuring the future of functional foods. *International Journal of Food Science and Technology*, 54: 1467-1485.

Bosscher, D., Van Loo, J., Franck, A. 2006. Inulin and oligofructose as functional ingredients to improve bone mineralization. *International Dairy Journal*, 16: 1092-1097.

Bosnea, L. A., Kopsahelis, N., Kokkali, V., Terpou, A., Kanellaki, M. 2017. Production of a novel probiotic yogur by incorporation of *L. casei* enriched fresh apple pieces, dried raisins and wheat grains. *Food and Bioproducts Processing*, 102: 62-71.

Bouhnik, Y., Vahedi, K., Achour, L., Attar, A., Salfati, J., Pochart, P., Marteau, P., Flourie, B., Bornet, F., Rambaud, J.C., 1999. Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases fecal bifidobacteria in healthy humans. *The Journal of Nutrition*, 129: 113-116.

Boye, J., Zare, F., Pletch, A. 2010. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43: 414-431.

Brown, L., Caligiuri, S.P.B., Brown, D., Pierce, G.N. 2018. Clinical trials using functional foods provide unique challenges. *Journal of Functional Foods*, 45: 233-238.

Brummer, Y., Kaviani, M., Tosh, S.M. 2015. Structural and functional characteristics of dietary fibre in beans, lentils, peas and chickpeas. *Food Research International*, 67:117-125.

Byndloss MX, Olsan EE, Rivera-Chávez F, et al. 2017. Microbiota-activated PPAR- γ signaling inhibits dysbiotic Enterobacteriaceae expansion. *Science*, 357:570-575.

Calatayud, G.A., Suárez, J.E. 2017. A new contribution to the history of probiotics. *Beneficial Microbes*, 8: 323-325.

Calderon, M., Loiseau, G., Guyot, J.P. 2003. Fermentation by *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 of different combinations of carbohydrates occurring naturally in cereals: consequences on growth energetics and α -amylase production. *International Journal of Food Microbiology*, 80: 161-169.

Campos-Vega, R., Loarca-Pina, L., Oomah, B.D. 2010. Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International*, 43:461-482.

Cardarelli, H. R., Saad, S. M., Gibson, G. R., Vulevic, J. 2007. Functional petit-suisse cheese: measure of the prebiotic effect. *Anaerobe*, 13: 200-207.

Champagne, C.P., Mollgaard, H. 2008. Production of probiotic cultures and their addition in fermented foods: In Handbook of Fermented Functional Foods, Editor: Farnworth, E. R., CRC Press, USA, pp. 513-532.

- Champagne, C.P., Gomes da Cruz, A. & Daga, M. 2018.** Strategies to improve the functionality of probiotics in supplements and foods. *Current Opinion in Food Science*, 22: 160-166.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S. and Webb, C. 2002.** Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *International Journal of Food Science*, 79: 131-141.
- Chavez-Mendoza, C., Sanchez, E. 2017.** Bioactive compounds from mexican varieties of the common Bean (*Phaseolus vulgaris*): Implications for health. *Molecules*, 22: 1-32.
- Chen, L., Liu, R., Qin, C., Meng, Y., Zhang, J., Wang, Y., Xu, G. 2010.** Sources and intake of resistant starch in the Chinese diet. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 19: 274-282.
- Chen H., Kou J., Hu M., Shu G. 2016.** Optimization of nitrogen source for *Bifidobacterium bifidum* using response surface methodology. *Acta Universitatis Cibiniensis*, 20:53-64.
- Chihi, M.L., Mession, J., Nicolas, S., Saurel, R. 2016.** Heat-induced soluble protein aggregates from mixed pea globulins and β -lactoglobulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64: 1-12.
- Chung, H.J., Liu, Q. 2011.** Physicochemical properties and in vitro digestibility of flour and starch from pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50:131-137.
- Corbo, M.R., Campaniello, D., Speranza, B., Altieri, C., Sinigaglia, M., Bevilacqua, A. 2018.** Neutralisation of toxins by probiotics during the transit into the gut: challenges and perspectives. *International Journal of Food Science & Technology*, 53: 1339-1351.
- Corcoran, B.M., Stanton, C., Fitzgerald, G., and Ross, R.P. 2008.** Life under stress: the probiotic stress response and how it may be manipulated. *Current Pharmaceutical Design*, 14: 1382-1399.
- Cremon, C., Barbaro, M.R., Ventura, M., Barbara, G. 2018.** Pre- and probiotic overview. *Current Opinion in Pharmacology*, 43, 87-92.
- Cruz, J.F., R, De Almeida, H.J., H, Dos Santos, D.M.M. 2014.** Growth, nutritional status and nitrogen metabolism in *Vigna unguiculata* (L.) Walp is affected by aluminum. *Australian Journal of Crop Science*, 8:1132-1139.
- Day, L. 2013.** Proteins from land plants: Potential resources for human nutrition and food security. *Trends in Food Science & Technology*, doi: 10.1016/j.tifs.2013.05.005.
- De Almeida Costa, G.E., Da Silva Queiroz-Monici, K., Reis, S.M.P.M., De Oliveira, A.C. 2006.** Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chemistry*, 94: 327-330.
- De Dea Lindner, J., Canchaya, C., Zhang, Z., Neviani, E., Fitzgerald, G.F., van Sinderen, D., and Ventura, M. 2007.** Exploiting *Bifidobacterium* genomes: the molecular basis of stress response. *International Journal of Food Science*, 120: 13-24.
- 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: 495-503.
- Devi, J., Sanwala, S.K., Koleya, T.K., Mishraa,G.P., Karmakara, P., Singha, P.M., Singh, B. 2019.** Variations in the total phenolics and antioxidant activities among garden pea (*Pisum sativum* L.) genotypes differing for maturity duration, seed and flower traits and their association with the yield. *Scientia Horticulturae*, 244: 141-150.
- De Ron, A.M., 2015.** Grain Legumes: Handbook of Plant Breeding. Springer, pp.: 39-40.

- Dertli, E., Toker, O. S., Durak, M. Z., Yilmaz, M. T., Tatlısu, N. B., Sagdic, O. 2016.** Development of a fermented ice-cream as influenced by in situ exopolysaccharide production: rheological, molecular, microstructural and sensory characterization. *Carbohydr. Polym.* 136: 427-440.
- Diana, M., Quílez, J., Rafecas, M. 2014.** Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review. *Journal of Functional Foods*, 10: 407-420.
- Drywien, M., Frackiewicz, J., Gornicka, M., Gadek, J., Jalousinska, M. 2015.** Effect of probiotic and storage time of thiamine and riboflavin content in the milk drinks fermented by *Lactobacillus casei* KNE-1. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 66: 373–377.
- Elfahri, K.R., Donkor, O. N., Vasiljevic, T. 2014.** Potential of novel *Lactobacillus helveticus* strains and their cell wall bound proteases to release physiologically active peptides from milk proteins. *International Dairy Journal*, 38: 37-46.
- Elhardallou, S.B., Khalid, I.I., Gobouri, A.A., Abdel-Hafez S.H. 2015.** Amino acid composition of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) flour and its protein isolates. *Food and Nutrition Science*, 6: 790-797.
- Fan, P.H., Zang, M.T., Xing, J. 2014.** Oligosaccharides composition in eight food legumes species as detected by high resolution mass spectrometry. *J Sci Food Agric*, 95: 2228-2236.
- FAO/WHO. 1991.** Protein quality evaluation. Joint FAO/WHO. *FAO Food Nutrition Paper*, 51: 1-66.
- Ferdousi, R., Rouhi, M., Mohammadi, R., Mohamad Mortazavian, A., Khosravi-Darani, K., Homayouni Rad, A. 2013.** Evaluation of probiotic survivability in yogurt exposed to cold chain interruption. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12: 139-144.
- Feng, W., Ao, H., Peng, C. 2018.** Gut microbiota, short-chain fatty acids and herbal medicines. *Frontiers in Pharmacology*, 9: 1-12.
- Fioramonti, J., Theodorou, V., Bueno, L. 2003.** Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? *Best Practice & Research: Clinical Gastroenterology*, 17: 711-724.
- Frost G., Sleeth M.L., Sahuri-Arisoylu M., et al. 2014.** The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nature Communications*, 5: 1-11.
- Fujii, A., Cook, E. S. 1973.** Probiotics. Antistaphylococcal and antifibrinolytic activities of omega-guanidine acids and omega-guanidinoacyl-L-histidines. *Journal of Medical Chemistry*, 16: 1409-1411.
- Fuller, R. 1992.** History and development of probiotics: Probiotics, the scientific basis, Editor: Fuller, R, Chapman & Hall., London, UK, pp: 1-8.
- Garcia, C., Bautista, L., Rendueles, M., & Díaz, M. 2019.** A new synbiotic dairy food containing lactobionic acid and *Lactobacillus casei*. *International Journal of Dairy Technology*, 72: 47-56.
- Gaspar, C., Palmeira de Oliveira, R., Martinez de Oliveira, J., das Neves, J., Pestana, P.G., Rolo, J., Donders, G., Palmeira de Oliveira, A. 2019.** Development and validation of a new one step Multiplex-PCR assay for the detection of ten *Lactobacillus* species. *Anaerobe*, 59: 192-200.
- Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. 1995.** Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125: 1401-1412.

- Gibson, R. G., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J. et al. 2017.** The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14: 491-502.
- Govender, M., Choonara, Y.K., Kumar, P., du Toit, L.C., van Vuuren, S., Pillay, S. 2014.** A review of the advancements in probiotic delivery: conventional vs non-conventional formulations for intestinal flora supplementation. *The Association of Pharmaceutical Scientists Journal*, 15: 29-43.
- Griffiths, M. J., Garcin, C., van Hille, R. P., Harrison, S. T. 2011.** Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density. *Journal of Microbiological Methods*, 85: 119-123.
- Gueimonde, M., Sanchez, B., Clara, G., Margolles, A. 2013.** Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 4: 202.
- Guichard, E. 2002.** Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception. *Food Reviews International*, 18:1, 49-70.
- Gupta, P., Andrew, H., Kirschner, B.S. and Guandalini, S. 2000.** Is *Lactobacillus* GG helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 31, 453-457.
- Hall, C., Hillen, C., Garden-Robinson, J. 2017.** Composition, nutritional value, and health benefits of pulses. *Cereal Chemistry*, 94:11-31.
- Halliwell, B., Whiteman, M. 2004.** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: How should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*, 142: 231-255.
- Hejdysz, M., Kaczmarek, S.A., Adamski, M., Rutkowski, A. 2017.** Influence of graded inclusion of raw and extruded pea (*Pisum Sativum* L.) meal on the performance and nutrient digestibility of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 230: 114-125.
- Hekmat, S., Soltani, H., Reid, G. 2009.** Growth and survival of *Lactobacillus reuteri* rc-14 and *Lactobacillus rhamnosus* gr-1 in yogurt for use as functional food. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 293-296.
- Herrera-Ponce, G., Nevarez-Morill, G., Ortega-Rivas, E., Perez-Vega, S., Salmeron, I. 2014.** Fermentation adaptability of three probiotic *Lactobacillus* strains to oat, germinated oat and malted oat substrates. *Letters in Applied Microbiology*, 59: 449-456.
- Hill, D., Sugrue, I., Tobin, C., Hill, C., Stanton, C., Ross, R. P. 2018.** The *Lactobacillus casei* group: History and health related applications. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-21.
- Huang, C.H., Huang, L. 2018.** Rapid species- and subspecies-specific level classification and identification of *Lactobacillus casei* group members using MALDI Biotyper combined with ClinProTools. *Journal of Dairy Science*, 101: 979-991.
- Huebner, J., Wehling, R. L., Hutkins, R. W. 2007.** Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, 17: 770-775.
- Hussain, M.A., Basahy, A.Y. 1998.** Nutrient composition and amino acid pattern of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp, Fabaceae) grown in the Gizan area of Saudi Arabia. *International Journal of Food Science*, 49: 117-124.
- Iannitti, T., Palmieri, B. 2010.** Therapeutical use of probiotic formulations in clinical practice. *Clinical Nutrition*, 29: 701-725.
- Iraporda, C., Rubel, I.A., Manrique G.D., Abraham, A.G. 2019.** Influence of inulin rich carbohydrates from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers on

probiotic properties of *Lactobacillus* strains. *Food Science and Technology*, 101: 738-746.

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: 5341-5346.

Jackson, F. W. 2010. Prebiotics: An important nutrient for the gluten intolerant. *Gluten Intolerance Group Magazine*, 33: 4-5.

Janer, C., Arigoni, F., Lee, B.H., Peláez, C., Requena, T. 2005. Enzymatic ability of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* to hydrolyze milk proteins: identification and characterization of endopeptidase O. *Applied and Environmental Microbiology*, 71:8460-8465.

Jayamanohar, J., Devib, P.B., Kavitateb, D., Priyadarisinia, V.B., Shettyb, P.H. 2019. Prebiotic potential of water extractable polysaccharide from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *LWT- Food Science and Technology*, 101: 703-710.

Jayathilake, C., Visvanathan, R., Deen, A., Bangamuwage, R., Jayawardana, B.C., Nammi, S., Liyanage, R. 2018. Cowpea: an overview on its nutritional facts and health benefits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98: 1-15.

Jenkins, D.J.A., Kendall, C.W.C., Augustin, L.S.A., Mitchell, S., et al. 2012. Effect of legumes as part of a low glycemic index diet on glycemic control and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus. *Archives of Internal Medicine*, 172: 1653-1660.

Joon, R., Mishra, S. K., Brar, G. S., Singh, P. K., Panwar, H. 2017. Instrumental texture and syneresis analysis of yoghurt prepared from goat and cow milk. *The Pharma Innovation*, 6: 971-974.

Kaplan, H., Hutkins, R. W. 2000. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 2682-2684.

Karaman, S., Özcan, T. 2018. Fonksiyonel süt ürünlerinin geliştirilmesinde nutrasötik bileşenler. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi*, 20: 30-45.

Kaur, N., Singh, D.P. 2017. Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: a literature review. *Appetite*, 112: 167-187.

Keatinge, J.D.H., Easdown, W.J., Yang, R.Y., Chadha, M.L., Shanmugasundaram, S. 2011. Overcoming chronic malnutrition in a future warming world: the key importance of mungbean and vegetable soybean. *Euphytica*, 180:129-141.

Kedare, S.B., Singh, R.P. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48: 412-422.

Kerry, R.G., Patra, J.K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H.S., Das, G. 2018. Benefication of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26: 927-939.

Khalid, I.I. Elharadallou, S.B. 2013. Functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp), and Lupin (*Lupinus termis*) flour and protein isolates. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 3: 1-6.

Khalil, A.A. 2006. Nutritional improvement of an Egyptian breed of mung bean by probiotic lactobacilli. *African Journal of Biotechnology*, 5: 206-212.

Khan, M.I., Arshad, M.S., Anjum, F.M., Sameen, A., Rehman, A., Gill, W.T. 2011. Meat as a functional food with special reference to probiotic sausages. *Food Research International*, 44: 3125-3133.

Kir, A., Tan, A., Adanacioglu, N., Karabak, S., Aysar-Guzelsoy, N. 2017. A Traditional Underutilized Crop of Turkey: Cowpea [*Vigna Unguiculata* (L.) Walp.] Landraces. *Anadolu Journal Of AARI*, 27: 62-68.

- Kirse, A., Karklina, D. 2015.** Integrated evaluation of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) and maple pea (*Pisum sativum* var. *Arvense* L.) spreads. *Agronomy Research*, 13: 956-968.
- Konieczka, P., Nowicka, K., Madar, M., Taciak, M., Smulikowska, S. 2018.** Effects of pea extrusion and enzyme and probiotic supplementation on performance, microbiota activity and biofilm formation in the broiler gastrointestinal tract. *British Poultry Science*, 59: 654-662.
- Kotancılar, H.G., Gerçekaslan, K.E., Karaoğlu, M. M., Boz, H. 2009.** Besinsel lif kaynağı olarak enzime dirençli nişasta. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40: 103-107.
- Köse, S., Kakhkaya, N., Koral, S., Tufan, B., Buruk, K.C., Aydın, F. 2011.** Commercial test kits and the determination of histamine in traditional (ethnic) fish products-evaluation against an EU accepted HPLC method. *Food Chemistry*, 125: 1490-1497.
- Kuczowska, K., Overland, L., Rocha, S.D.C., Eijsink, V.G.H., Mathiesen, G. 2019.** Comparison of eight *Lactobacillus* species for delivery of surface-displayed mycobacterial antigen. *Vaccine*, 37: 6371-6379.
- Kudre, T.G., Benjakul, S., Kishimura, H. 2013.** Comparative study on chemical compositions and properties of protein isolates from mung bean, black bean and bambara groundnut. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93: 2429-2436.
- Kumar, M., Nagpal, R., Hemalatha, R., Yadav, H., Marotta, F. 2016.** Probiotics and prebiotics for promoting health: through gut microbiota: probiotics, prebiotics, and synbiotics. Editors: R.R. Watson, V.R. Preedy, Academic Press, Amsterdam, Netherlands, pp. 75-85.
- Lambrides, C.J., Godwin, I.D. 2007.** Pulses, Sugar and Tuber Crops: Cowpea, Editor: Kole, C. Springer, pp.: 69-70.
- Langyintuo, A.S., Lowenberg-De Boer, J., Faye, M., Lambert, D., Ibro, G., Moussa, B., Kergna, A., Kushwaha, S., Musa, S., Ntoukam, G. 2003.** Cowpea supply and demand in West Africa. *Field Crops Research*, 82: 215-231.
- Lauzon, H. L., Sanchez, T.P., Merrifield, D. L., Ringo, E. 2014.** Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics: Probiotic Applications in Cold Water Fish Species, Editors: Merrifield, D.L., Ringo, E. New Jersey, pp.: 223-252.
- Ley, R.E., Turnbaugh, P.J., Klein, S., Gordon, J.I. 2006.** Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444: 1022-1023.
- Lilly, D.M., Stillwell, R.H. 1965.** Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147: 747-748.
- Lin, H.V., Frassetto, A., Kowalik Jr, E.J., et al. 2012.** Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. *Plos One*, 7: 1-9.
- Linares, D.M., Gomez, C., Renes, E., Fresno, J.M., Tornadjo, M.E., Ross, R.P., Stanton, C. 2017.** Lactic acid bacteria and bifidobacteria with potential to design natural biofunctional health-promoting dairy foods. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1-11.
- Lomax, A.R. and Calder, P.C. 2009.** Prebiotics, immune function, infection and inflammation: A review of the evidence. *British Journal of Nutrition*, 101: 633-658.
- Lomonaco, S., Furumoto, E.J., Loquasto, J.R., Morra, P., Grassi, A., Roberts, R.F. 2015.** Development of a rapid SNP-typing assay to differentiate *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* strains used in probiotic-supplemented dairy products. *Journal of Dairy Science*, 98 :804-812.

- Longdet, I.Y., Kutshik, R.J, Nwoyeocha, I.G. 2011.** The probiotic efficacy of lactobacillus of *Lactobacillus casei* from human breast milk against Shigellosis in Albino rats. *Advances in Biotechnology & Chemical Processes*, 1: 12-16.
- Los, F.G.B., Zielinski, A.A.F., Wojeicchowski, J.P., Nogueira, A., Demiate, I.M. 2018.** Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): whole seeds with complex chemical composition. *Current Opinion in Food Science*, 19: 63-71.
- Lourens-Hattingh, A., Viljoen, B. C. 2001.** Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11: 1-17.
- Magalhaes, S.C., Taveira, M., Cabrita, A.R., Fonseca, A.J., Valentao, P., Andrade P.B. 2017.** European marketable grain legume seeds: further insight into phenolic compounds profiles. *Food Chemistry*, 15: 177-184.
- Malashree, L., Vishwanath-Angadi, K. Shivalkar-Yadav and Prabha, V. 2019.** “Postbiotics” -one step ahead of probiotics. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8: 2049-2053.
- Maragkoudakis, P.A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B., Tsakalidou, E. 2006.** Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy of Journal*, 16:189-199.
- Masco L., Ventura M., Zink R., Huys G. and Swings J. 2004.** Polyphasic taxonomic analysis of *B. animalis* and *B. lactis* reveals relatedness at the subspecies level: reclassification of *B. animalis* as *B. animalis* subsp. *animalis* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54: 1137-1143.
- Matsumoto, M., Tani, H., Ono, H., et al. 2002.** Adhesive property of *Bifidobacterium lactis* LKM512 and predominant bacteria of intestinal microflora to human intestinal mucin. *Current Microbiology*, 44: 212-215.
- Matsumoto, M., H. Ohishi, Y. Benno. 2004.** H⁺-ATPase activity in *Bifidobacterium* with special reference to acid tolerance. *International Journal of Food Microbiology*, 93: 109-113.
- Mattila-Sandholm, T., Myllarinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fonden, R., Saarela, M. 2002.** Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, 12: 173-182.
- McFarland, L. V., Goh, S. 2018.** Are probiotics and prebiotics effective in the prevention of travellers’ diarrhea: A systematic review and meta-analysis. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 27: 11-19.
- Menrad, K. 2003.** Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56: 181-188.
- Meinlschmidt, P., Ueberham, E., Lehmann, J., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P., 2016.** Immunoreactivity, sensory and physicochemical properties of fermented soy protein isolate. *Food Chemistry*, 205: 229-238.
- Millar, K.A., Gallegher, E., Burke, R., McCarthy, S., Barry-Ryan,C. 2019.** Proximate composition and anti-nutritional factors of fava-bean (*Vicia faba*), green-pea and yellow-pea (*Pisum sativum*) flour. *Journal of Food Composition and Analysis*, 82: 1-8.
- Mills, S., Stanton, C., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P. 2011.** Enhancing the stress responses of probiotics for a lifestyle from gut to product and back again. *Microbial Cell Factories*, 1-15.
- Mogalhaes, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, L.L.F.C., Rangel, O.S.S. 2006.** Automatic method for the determination of Folin-Ciocalteu reducing capacity in food products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 5241-5246.

- Mohanty, D., Misrab, S., Mohapatrac, S., Sahu, P.S. 2018.** Prebiotics and synbiotics: Recent concepts in nutrition. *Food Bioscience*, 26:152-160.
- Mojica, L., Luna-Vital, D.A., Gonzalez, E., Mejia, D. 2017.** Characterization of peptides from common bean protein isolates and their potential to inhibit markers of type-2 diabetes, hypertension and oxidative stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97: 2401-2410.
- Moongngarm, A., Trachoo, N., Sirigungwa, N. 2011.** Low molecular weight carbohydrates, prebiotics content, and prebiotic activity of selected food plants in Thailand. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3: 269-274.
- Moumita, S., Goderska, K., Johnson, E.M. et al. 2017.** Evaluation of the viability of free and encapsulated lactic acid bacteria using in-vitro gastro intestinal model and survivability studies of synbiotic microcapsules in dry food matrix during storage. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 77: 460-467.
- Murat, C., Bard, M.H., Dhalleine, C., Cayot, N., 2013.** Characterisation of odour active compounds along extraction process from pea flour to pea protein extract. *Food Research Intenational*, 53: 31-41.
- Nemecek, T., von Richthofen, J.S., Dubois, G., Casta, P., Charles, R., Pahl, H. 2008.** Environmental impacts of introducing grain legumes into European crop rotations. *European Journal of Agronomy*, 28: 380-393.
- Neilson, A., Ferruzzi, M., Goodrich, K.M. 2017.** Bioavailability and metabolism of bioactive compounds from foods: Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease, Fourth Edition, Academic Press, pp. 301-319.
- Ngoma, T.N., Chimimba, U.K., Mwangwela, A.M., Thakwalakwa, C., Maleta, K. M., Manary, M.J., Trehan, I. 2018.** Effect of cowpea flour processing on the chemical properties and acceptability of a novel cowpea blended maize porridge. *Plos One*, 13: 1-10.
- Nguyen, B.T., Bujna, E., Fekete, N., Tran, A.T.M., Rezessy-Szabo, J.M., Prased, R., Nguyen, Q. 2019.** Probiotic beverage from pineapple juice fermented with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Frontiers in Nutrition*, 9: 6-54.
- Nilüfer-Erdil, D. 2016.** Bakliyatların Fırıncılık Ürünlerinde Uygulama Araştırmaları, <https://docplayer.biz.tr/19800197-Bakliyatlarinfirincilikurunlerindeuygulamaaraastirmalari.html> (Erişim Tarihi: 29.10.2019).
- O'Connor, T. 2017.** Developing new functional food and nutraceutical products. *Journal of Nutrition Education and Behavior*, 49: 793.
- O'Hara, A.M., Shanahan. F. 2006.** The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Reports*, 7: 688-693.
- Ojwang, L.O., Yang, L.Y., Dykes, L., Awika, J. M. 2013.** Proanthocyanidin profile of cowpea (*Vigna unguiculata*) reveals catechin-O-glucoside as the dominant compound. *Food Chemistry*, 139: 35-43.
- Olejnik, A., Lewandowska, M., Obarska, M., Grajek, W. 2005.** Tolerance of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains to low pH, bile salts and digestive enzymes, *Food Science and Technology*, <http://www.ejpau.media.pl/volume8/issue1/art-05.html> (Erişim Tarihi: 25.11.2019).
- Oliveira, I., Valentao, P., Lopes, R., Andrade, P. B., Bento, A., Pereira, J. A. 2009.** Phytochemical characterization and radical scavenging activity of *Portulaca oleraceae* L. leaves and stems. *Microchemical Journal*, 92: 129-134.

- Osorio-Diaz, P., Bello-Perez, L.A., Agama, E., Vargas-Torres, A., Tovar, J., Parades-Lopez, O. 2002.** In vitro digestibility and resistant starch content of some industrialized commercial beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 78: 333-337.
- Ozcan, O., Ozcan, T., Yilmaz-Ersan, L., Akpinar-Bayazit, A. and Delikanli, B. 2016.** The use of prebiotics of plant origin in functional milk products. *Food Science and Technology*, 4: 15-22.
- Ozcan, T., Yilmaz-Ersan, L., Akpinar-Bayazit, A., Delikanli-Kiyak, B. 2017.** Using of stevia as non-caloric sugar substitutes on viability of probiotic bacteria *Lactobacillus casei*. Proceedings of 68 th The IRES International Conference, 11-12 May, Lisbon, Portugal.
- Ozcan, T., Sahin, S., Akpinar-Bayazit, A., Yilmaz-Ersan, L. 2019.** Assessment of antioxidant capacity by method comparison and amino acid characterisation in buffalo milk kefir. *International Journal of Dairy Technology*, 72: 65-73.
- Özcan, T., Akpinar-Bayazit, A., Yilmaz-Ersan, L. 2018.** Probiyotik süt ürünlerinde bifidojenik faktör olarak inülin. 7. Ulusal Sağlıklı Yaşam Sempozyumu, 12-15 Nisan 2018, İstanbul.
- Parker, R.B. 1974.** Probiotics, the other half of the story. *Animal Nutrition and Health*, 29: 4-8.
- Parra, K., Ferrer, M., Pinero, M., Barboza, Y., Medina, M. 2012.** Use of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* for a potential probiotic legume-based fermented product using pigeon pea (*Cajanus cajan*). *Journal of Food Protection*, 76: 265-271.
- Parrella, A., Caterino, E., Cangiano, M., Criscuolo, E., Russo, C., Lavorgna, M., Isidori, M. 2012.** Antioxidant properties of different milk fermented with lactic acid bacteria and yeast. *International Journal of Food Science*, 47: 2493-2502.
- Pasiakos, S.M., Agarwal, S., Lieberman, H.R., Fulgoni, V.L. 2015.** Sources and amounts of animal, dairy, and plant protein intake of US adults in 2007-2010. *Nutrients*, 7: 7058-7069.
- Patel, A., Shah, N., Prajapati, J. B. 2013.** Biosynthesis of vitamins and enzymes in fermented foods by lactic acid bacteria and related genera - A promising approach. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 5: 85-91.
- Patil, S. 2013.** Probiotics and prebiotics: fabulous nutritional supplements. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 4: 318-333.
- Pedrosa, M.M., Cuadrado, C., Burbano, C., Muzquiz, M., Cabellos, B., Olmedilla-Alonso, B., Asensio-Vegas, C. 2015.** Effects of industrial canning on the proximate composition, bioactive compounds contents and nutritional profile of two Spanish common dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 166: 68-75.
- Pelinescu, D.R., Sasarman, E., Chifiriuc, M.C. 2009.** Isolation and identification of some *Lactobacillus* and *Enterococcus* Strains by a polyphasic taxonomical approach. *Rom Biotech Lett*, 14: 4225-4233.
- Peng, Y., Serra, M., Horne, D.S., Lucey, J.A. 2009.** Effect of fortification with various types of milk proteins on the rheological properties and permeability of nonfat set yogurt. *Journal of Food Science*, 74: 666-673.
- Pescuma, M., Hebert, E.M., Mozzi, F., de Valdez, G.F. 2008.** Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiology*, 25: 442-451
- Petry, N., Boy, E., Wirth, J.P., Hurrell, R.F. 2015.** Review: The potential of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) as a vehicle for iron biofortification. *Nutrients*, 7: 1144-1173.

- Petrulakova, M., Valik, L. 2015.** Legumes As Potential Plants For Probiotic Strain *Lactobacillus Rhamnosus* GG, *Acta Universitatis Agriculturae Et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 63: 1505-1511.
- Pimentel, T.C. 2017.** Fruit juices as probiotic carriers. *Journal of Plant Biotechnology and Microbiology Search*, 1: 8-10.
- Playne, M.J., Bennet, L.E., Smithers, G.W. 2003.** Functional dairy foods and ingredients. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 58: 242-264.
- Plaza-Diaz, J., Ruiz-Ojeda, F.J., Gil-Campos, M., Gil, A. 2019.** *Mechanisms of Action of Probiotics. Advances in Nutrition*, 10: 49-66.
- Plessas, S., Bosnea, L., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E. 2012.** Potential effects of probiotics in cheese and yogurt production: A review. *Engineering in Life Sciences*, 12: 1-9.
- Polat, M. 2017.** Kuru Fasulye Ürün Raporu. T.C. Gıda, Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Ekonomi Ve Politika Geliştirme Enstitüsü, Ankara.
- Poonia, A. 2017.** Prebiotics, probiotics and synbiotic foods: Functional Foods: Sources and Health Benefits, Editors: Mudgil, D., Barak, S., Scientific Publishers, India, pp.: 173-204.
- Prado, F.C., Parada, J.L., Pandey, A., Soccol, C.R. 2008.** Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, 41: 111-123.
- Prado, M. R., Blandon, L. M., Vandenberghe, L. P., Rodrigues, C., Castro, G. R., Thomaz-Soccol, V. 2015.** Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers in Microbiology*, 6:1177.
- Quansah, J. K., Udenigwe, C. C., Saalia, F. K., Yada, R. Y. 2013.** The effect of thermal and ultrasonic treatment on amino acid composition, radical scavenging and reducing potential of hydrolysates obtained from simulated gastrointestinal digestion of cowpea proteins. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68: 31-38.
- Rabiu, B.A., Gibson, G.R. 2002.** Carbohydrates: a limit on bacterial diversity within the colon. *Biological Reviews*, 77: 443-453.
- Ranadheera, R.D.C.S., Baines, S.K., Adams, M.C., 2010.** Importance of food in probiotic efficacy. *Food Research International*, 43: 1-7.
- Renna, M., Cornale, P., Lussiana, C., Malfatto, V., Fortina, R., Mimosi, A., Battaglini, L.M. 2011.** Use of *Pisum sativum* (L.) as alternative protein resource in diets for dairy sheep: Effects on milk yield, gross composition and fatty acid profile. *Small Ruminant Research*, 102: 142-150.
- Rettger, L. F., Horton, G.D. 1914.** A comparative study of the intestinal flora of white rats kept on experimental and ordinary mixed diets. *Zentralblatt fur Bakteriologie und Parasitenkunde*, 73: 362-372.
- Rettger, L.F., Cheplin, H.A. 1920a.** The transformation of the intestinal flora, with special reference to the implantation of *Bacillus acidophilus*. I. Feeding experiments with albino rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 6: 423-426.
- Rettger, L.F., Cheplin, H.A. 1920b.** The transformation of the intestinal flora, with special reference to the implantation of *Bacillus acidophilus*. II. Feeding experiments on man. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 6: 704-705.
- Reverri, E.J., Randolph, J.M., Kappagoda, C.T., Park, E., Edirisinghe, I., Burton-Freeman, B.M. 2017.** Assessing beans as a source of intrinsic fiber on satiety in men and women with metabolic syndrome. *Appetite*, 118: 75-81.

- Riu, X., Wen, D., Li, W., Chen, X., Jiang, M., Dong, M. 2014.** Enrichment of ACE inhibitory peptides in navy bean (*Phaseolus vulgaris*) using lactic acid bacteria. *Food and Function*, 6: 622-629.
- Rodrigues, D., Rocha-Santos, T.A.P., Freitas, A.C., Gomes, A.M.P., Duarte, A.C. 2012.** Analytical strategies for characterization and validation of functional dairy foods, *Trends in Analytical Chemistry*, 41: 27-45.
- Rowland, I., Gibson, G., Heinken, A., Scott, K., Swann, J., Thiele, I., Tuhoy, K. 2018.** Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *European Journal of Nutrition*, 57: 1-24.
- Rui, X., Wen, D., Li, W., Chen, X., Jiang, M., Dong, M. 2015.** Enrichment of ACE inhibitory peptides in navy bean (*Phaseolus vulgaris*) using lactic acid bacteria. *Food and Function*, 6: 622-629.
- Saarela, M. 2009.** Probiotics as ingredients in functional beverages: In *Functional and Speciality Beverage Technology*, Editor: Paquin, P., CRC Press, USA, pp. 55-70.
- Sabate, J., Soret, S. 2014.** Sustainability of plant-based diets: back to the future. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1-7.
- Sadler, G.D., Murphy, P.A. 2010.** Food Analysis: pH and titratable acidity. Springer, Boston, MA, pp: 219-238.
- Saldamlı, İ., Temiz, A. 2007.** Gıda Kimyası, Hacettepe Üni. Yayınları, Ankara, 4. Bölüm, 266 s.
- Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y., Lee, Y.K. 1999.** Probiotics: How should they be defined? *Trends in Food Science and Technology*, 10: 107-110.
- Sanchez, B., Champomier-Verges, M.-C., del Carmen Collado, M., Anglade, P., Baraige, F., Sanz, Y., de los Reyes-Gavilan, C.G., Margolles, A. Zagorec, M. 2007.** Low-pH adaptation and the acid tolerance response of *Bifidobacterium longum* biotype longum. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 6450-6459.
- Santos, O.R., 1 Silva, M.V.F., Nascimento, K.O., et al. 2017.** Prebiotic flours in dairy food processing: Technological and sensory implications. *International Journal of Dairy Technology*, 70: 1-10.
- Saxelin, M., Korpela, R., Mayra-Makinen, A. 2003.** Functional Dairy Product: Classifying functional dairy products, Editors: Mattila-Sandholm, T., Saarela, M., CRC Press, USA, pp.: 1-16.
- Schley, P.D., Field, C.I. 2002.** The immune-enhancing effects of dietary fibres and probiotics. *British Journal of Nutrition*, 87: 211-230.
- Schrezenmeir, J., de Vrese, M. 2001.** Probiotics, prebiotics, and synbiotics- Approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 361-364.
- Seifert, S., Watzl, B. 2007.** Inulin and oligofructose: Review of experimental data on immune modulation. *Journal of Nutrition*, 137: 2563-2567.
- Senapati, A.K., Varshney, A.K., Sharma, V.K. 2019.** Mathematical Modeling of Dried Green Peas: A Re.view. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8: 3232-3239
- Shah, N.P. 2007.** Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*, 17:1262-1277.
- Shehata, A.I. 2012.** Molecular identification of probiotics *lactobacillus* strain isolates by amplified ribosomal DNA restriction analysis. *African Journal of Microbiology Research*, 6: 3034-3041.

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

Shori, A. B. 2016. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience*, 13: 1-8.

Silk, D.B., Davis, A., Vulevic, J., Tzortzis, G., Gibson, G.R. 2009. Clinical trial: the effects of a trans-galactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 29: 508-518.

Silva, B.V., Barreira, J.C., Oliveira, M.B.P. 2016. Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional foods: extraction, biochemistry and protected-delivery technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 50: 144-158.

Simpson, P.J., Stanton, C., Fitzgerald, G.F., Ross, R.F. 2005. Intrinsic tolerance of *Bifidobacterium* species to heat and oxygen and survival following spray drying and storage. *Journal of Applied Microbiology*, 99:493-501.

Singh, M., Kim, S. 2009. Yogurt fermentation in the presence of starch-lipid composite. *Journal of Food Science*, 74: 85-89.

Singh, B., Singh, J.P., Kaur, A., Singh, N. 2017. Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review. *Food Research International*, 101: 1-16.

Siro, I., Kapolna, E., Kapolna, B., Lugasi, A. 2008. Functional food, product development, marketing and consumer acceptance: A review. *Appetite*, 51: 456-467.

Socol, C.R., de Souza Vandenberghe, L.P., Spier, M.R., Medeiros, A.B.P., Yamaguishi, C.T., de Dea Linder, J., Pandey, A., Thomaz-Socol, V. 2010. The potential of probiotics: a review. *Food Technology and Biotechnology*, 48: 413-434.

Song, H., Han, W., Yan, F., Xu, D., Chu, Q., Zheng, X. 2016. Dietary *Phaseolus vulgaris* extract alleviated diet-induced obesity, insulin resistance and hepatic steatosis and alters gut microbiota composition in mice. *Journal of Functional Foods*, 20: 236-244.

Sousa, S., Pinto, J., Pereira, C., Malcata, F.X., Pacheo, B., Gomes, A.M., Pintado, M. 2015. *In vitro* evaluation of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour prebiotic potential. *Food and Bioprocess Technology*, 95: 96-105.

Sömer, V.F., Akpınar, D., Kılıç, G.B. 2012. *Lactobacillus casei*'nin sağlık üzerine etkileri ve gıda endüstrisinde kullanımı. *Gıda*, 37: 165-172.

Stamatova, I., Meurman, J.H., Kari, K., Tervahartiala, T., Sorsa, T., Baltadjieva, M. 2007. Safety issues of *Lactobacillus bulgaricus* with respect to human gelatinases *in vitro*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 1: 194-200.

Steinkraus, K.H., 2002. Fermentations in world food processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1: 23-32.

Su, P., Henriksson, A., Mitchell, H. 2007. Selected prebiotics support the growth of probiotic mono-cultures *in vitro*. *Anaerobe*, 13: 134-139.

Swieca, M., Gawlik-Dziki, U., Jakubczyk, A., Bochnak, J., Sikora, M., Suliburska, J. 2019. Nutritional quality of fresh and stored legumes sprouts - Effect of *Lactobacillus plantarum* 299v enrichment. *Food Chemistry*, 288: 325-332.

Tabasco, R., Paarup, T., Janer, C., Pelaez, C., Requena, T. 2007. Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* subsp. *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk, *International Dairy Journal*, 17: 1107-1114.

- Tamang, J.P., Shin, D.H., Jung, S.J., Chae, S.W., 2016.** Functional properties of microorganisms in fermented foods. *Frontiers in Microbiology*, 7:1-13.
- Tamime, A.Y., Saarela, M., Korslund-Sondergaard, A., Mistry, V.V. ve Shah, N.P. 2005.** Production and maintenance of viability of probiotic microorganisms in dairy products: Probiotic Dairy Products, Ed.: Tamime, A.Y., Blackwell Publishing Ltd., London, pp: 39-97.
- Taverniti, V., Guglielmetti, S. 2011.** The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes & Nutrition*, 6: 261-274.
- Tian, Q., Wang, T. T., Tang, X., Han, M. Z., Leng, X. J., Mao, X. Y. 2015.** Developing a potential prebiotic of yogurt: growth of Bifidobacterium and yogurt cultures with addition of glycomacropeptide hydrolysate. *International Journal of Food Science & Technology*, 50: 120-127.
- Timko, M.P., Ehlers, J.D., Roberts, P.A. 2007.** Pulses, Sugar and Tuber Crops: Cowpea, Ed.: Kole, Chittaranjan, Springer, pp: 49-67.
- Tindall, B.J. 2008.** The type strain of *Lactobacillus casei* is ATCC 393, ATCC 334 cannot serve as the type because it represents a different taxon, the name *Lactobacillus paracasei* and its subspecies names are not rejected and the revival of the name '*Lactobacillus zeae*' contravenes Rules 51b(1) and (2) of the International Code of Nomenclature of Bacteria. Opinion 82. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58: 1764-1765.
- Trinidad, T.P., Mallillin, A.C., Loyola, A.S., Sagum, R.S., Encabo, R.R. 2010.** The potential health benefits of legumes as a good source of dietary fibre. *British Journal of Nutrition*, 103: 569-574.
- Tripathi, M.K., Giri, S.K. 2014.** Probiotic functional foods: survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9: 225-241.
- Tsai, C.C., Chou, L.C., Tsen, H.Y., Lin, J.S. 2016.** An *in vitro* investigation of the antagonistic effects of multiple strains of Lactobacillales on *Salmonella Enterica* Serovar Choleraesuis. *Applied Microbiology: Open Access*, 2: 1000109.
- Tsilingiri, K. Rescigno, M., 2013.** Postbiotics: What else? *Beneficial microbes*, 4: 101-107.
- Tok, E., Aşım, B. 2007.** Probiyotik olarak kullanılan bazı laktik asit bakterilerinin kolesterol asimilasyonu ve safra tuzları dekonjugasyonundaki rolleri. *Türk Mikrobiyol Cemiyeti Dergisi*, 37: 62-68.
- Tosh, S.M., Yada, S. 2010.** Dietary fibers in pulse seeds and fractions: characterization, functional attributes, and applications. *Food Research International*, 43: 450-460.
- Usta, B. Yılmaz-Ersan, L. ve Özcan, T. 2015.** Prebiyotik etkinin değerlendirilmesinde nicel yaklaşımlar, 2. İç Anadolu Bölgesi Tarım ve Gıda Kongresi, 28-30 Nisan, Nevşehir, 321.
- Valdes, A.M., Walter, J., Segal, E., Spector, T.D. 2018.** Role of the gut microbiota in nutrition and health. *British Medical Journal*, 361: 36-44.
- Vasiljevic, T., Shah, N.P. 2008.** Probiotics-From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18: 714-728.
- Venegas, D.P., De la Fuentel, M. K., Landskron, G., Gonzalez, M.J., Quera, R., et al. 2019.** Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases. *Frontiers in Immunology*, 10: 277.

- Ventura, M., van Sinderen, D., Fitzgerald, G.F., Zink, R. 2004.** Insights into the taxonomy, genetics and physiology of bifidobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek Journal of Microbiology*, 86: 205-223.
- Vergin, F. 1954.** Antibiotics and Probiotics. *Hippokrates*, 25, 116-119.
- Wang, B., Jiang, X., Cao, M., Ge, J., Bao, Q., Tang, L. Chen, Y., Lanjuan, Li. 2016.** Altered fecal microbiota correlates with liver biochemistry in nonobese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Scientific Reports*, 1-11.
- Wang, B., Yao, M., Lv, L., Ling, Z., Li, L. 2017a.** The human microbiota in health and disease, *Engineering*, 3: 71-82.
- Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei, X., Yu, D., Wang, Y., Li, W. 2017b.** Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. *Nutrients*, 9: 1-15.
- Wesche, A.M., Gurtler, J.B., Marks, B.P., and Ryser, E.T. 2009.** Stress, sublethal injury, resuscitation, and virulence of bacterial food pathogens. *Journal of Food Protection*, 72: 1121-1138.
- WHO/FAO/UNU, 2007.** Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. WHO Technical Report Series. Place Published: *World Health Organization*.
- Worku, A., Sahu, O. 2017.** Significance of fermentation process on biochemical properties of *Phaseolus vulgaris* (red beans). *Biotechnology Reports*, 16: 5-11.
- Wu, H., Rui, X., Li, W., Chen, X., Jiang, M., Dong, M. 2015.** Mung bean (*Vigna radiata*) as probiotic food through fermentation with *Lactobacillus plantarum* B1-6. *Food Science and Technology*, 63: 445-451.
- Yang, K., Xu, M., Zhong, F., Zhu, J. 2018.** Rapid differentiation of *Lactobacillus* species via metabolic profiling. *Journal of Microbiological Methods*, 154: 147-155.
- Yasmeen, A., Yaseen, T., Faisal, M., Nazir, S., Usman, S., Nasreen, Z., Ali, S. 2017.** A comparison of nutrient and dietary compositions of cereals and pulses commonly consumed in Pakistan. *Pakistan Journal of Scientific Industrial Research*, 60: 119-121.
- Yılmaz, M., Seçilmiş, H. 2006.** Gaz kromatografisi headspace sistemi ile süt ürünlerinde bazı aroma bileşenlerinin analizi, Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu.
- Yildiz, E., Ozcan, T. 2019.** Functional and textural properties of vegetable-fibre enriched yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 72:199-207.
- Yi-Shen, Z., Shuai, S., FitzGerald, G. 2018.** Mung bean proteins and peptides: nutritional, functional and bioactive properties. *Food & Nutrition Research*, 60: 1290.
- Yüksel, H. 2004.** Kardiyovasküler Hastalıkların Tedavisinde Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 32: 188-196.
- Zare, F., Boye, J.I., Champagne, C.P., Orsat, V., Simpson, B.K. 2013.** Probiotic milk supplementation with pea flour: Microbial and physical properties. *Food Bioprocess Technology*, 6: 1321-1331.
- Zhang, S., Liu, L., Su, Y., Li, H., Sun, Q., Liang, X. 2011.** Antioxidative activity of lactic acid bacteria in yoğurt. *African Journal of Microbiology Research*, 5: 5194-5201.
- Zhang, S., Shi, Y., Zhang, S., Shang, W., Gao, X., Wang, H. 2014.** Whole soybean as probiotic lactic acid bacteria carrier food in solid-state fermentation. *Food Control*, 41: 1-6.
- Zhao, Y., Du, S., Wang, H., Cai, M. 2014.** In vitro antioxidant activity of extracts from common legumes. *Food Chemistry*, 152: 462-466.
- Zhao, L., Zhang, F., Ding, X., et al. 2018.** Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. *Science*, 359: 1151-1156.

ÖZGEÇMİŞ

- Adı Soyadı : Merve Begüm ÖZYÜREK
- Doğum Yeri ve Tarihi : Kahramanmaraş / 06.06.1991
- Yabancı Dil : İngilizce
- Eğitim Durumu
- Lise : Sırrı Yırcalı Anadolu Lisesi (2005-2009)
- Lisans : Hacettepe Üniversitesi (2009-2015)
- Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi (2018-2020)
- Çalıştığı Kurum/Kurumlar : Hisar Süt Ürünleri Hayvan ve Hayvansal Gıda Sanayi Ticaret Limited Şirketi - Balıkesir - 08/2015- 10/2016
- İletişim (e-posta) : mbnarli@gmail.com
- Yayımları :
- Özcan, T., Yılmaz-Ersan, L., **Özyürek, M.B.**, Suna, G., Teksoy, Ş., Öztürk, Z. 2019. Süt Ürünlerinin Ambalajlanmasında Biyosensör Uygulamaları, TÜRKAS Tüm Ürün, Kap ve Ambalaj Standartları Sempozyumu: Süt ve Süt Ürünleri, 16-18 Nisan, İstanbul, 54-63.
- Yılmaz-Ersan, L., Özcan, T., Suna, G., Özçelik, Ş., Öztürk, Z., ve **Özyürek, M.B.** 2019. Süt Endüstrisinde Proses Kontrolünde Yeni Yaklaşımlar; Biyosensörler, 2. Ulusal Sütçülük Kongresi, 25-26 Nisan, İzmir, 201-202.
- Projeler :
- U. Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje No: OUAP(Z) - 2019/11), 2019. Stevia Katkılı Şeker Oranı Azaltılmış Fonksiyonel Süt Ürünlerinin Geliştirilmesi. Yardımcı Araştırmacı.