



**STEVIA KATKILI PROBİYOTİK YOĞURTLARDA
BAKTERİ CANLILIĞININ VE ÜRÜN ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Ezgi EROĞLU



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STEVIA KATKILI PROBİYOTİK YOĞURTLARDA BAKTERİ
CANLILIĞININ VE ÜRÜN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Ezgi EROĞLU

Doç. Dr. Tülay ÖZCAN
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA - 2019

TEZ ONAYI

Ezgi EROĞLU tarafından hazırlanan “Stevia Katkılı Probiyotik Yoğurtlarda Bakteri Canlılığının ve Ürün 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 : Doç. Dr. Tülay ÖZCAN

Başkan : Doç. Dr. Tülay ÖZCAN
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İmza

Üye : Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İmza

Üye : Prof. Dr. Ayşe GÜRSOY
Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Süt Teknolojisi Anabilim Dalı

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ali BAYRAM
Enstitü Müdürü
28.2.2019

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

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

beyan ederim.

28.03.2019.
E. Eroğlu imza
Ezgi EROĞLU

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

STEVIA KATKILI PROBİYOTİK YOĞURTLARDA BAKTERİ CANLILIĞININ VE ÜRÜN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ezgi EROĞLU

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Tülay ÖZCAN

Bu çalışmada *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* ve *Lactobacillus acidophilus* probiyotik bakteri suşlarının sırasıyla karbonhidrat içermeyen TPY (Tryptone Peptone Yeast Extract) ve MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) temel besi ortamına ilave edilen steviayı *in vitro* koşullarda fermente edebilme yetenekleri araştırılmıştır. Besi ortamlarına substrat olarak %0,025 ve %1 stevia, %0,025 stevia + %1 inülin, %1 stevia + %1 inülin ile %2 oranında kültür ilave edilerek 37°C'de 48 saat süreyle anaerobik fermantasyona bırakılmıştır. Karbonhidrat içermeyen örnek, negatif; %1 glikoz veya inülin içeren örnek ise pozitif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Temel ortamda geliştirilen kültürlerden, fermantasyonun 0., 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde örnekler alınmıştır. Bu örneklerde pH, hücre yoğunluğu (OD₆₀₀), probiyotik bakteri sayısı, prebiyotik aktivite sayısı (PAS), laktik asit ve kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) miktarı belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında stevia katkılı probiyotik yoğurt üretimi gerçekleştirilmiş ve stevianın potansiyel prebiyotik aktivitesi ile yoğurt özellikleri üzerine etkisi değerlendirilmiştir.

Fermantasyon süresince asitlik gelişimine de bağlı olarak *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un hücre yoğunluğu değerlerinin (OD₆₀₀) artış gösterdiği ve bakteriyel fermantasyonun en fazla *L. acidophilus* örneklerinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Probiyotik bakterilerin en iyi gelişim gösterdiği besi ortamı %0,025 stevia ve %0,025 stevia + %1 inülin içeren ortam olmuştur. Stevia, *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* tarafından fermente edilebilir özellik gösterirken, ayrıca inülin ilavesi bakteri gelişimini arttırmıştır. Yoğurt örneklerinde depolama süresinin 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerinde mikrobiyolojik, fizikokimyasal (titrasyon asitliği, serum ayrılması, renk (*L*, *a* ve *b*), tekstürel (sıklık, konsistens, iç yapışkanlık ve viskozite indeksi) ile duyuşal (görünüş, yapı ve tekstür, koku, renk, aroma yoğunluğu, tat, duyuşal asitlik ve genel kabul edilebilirlik) özellikler incelenmiştir. Probiyotik bakteri sayısının stevia ve inülin içeren yoğurt örneklerinde depolama boyunca biyoterapötik seviyede (>7 log kob/mL) kaldığı saptanmıştır. *B. animalis* subsp. *lactis* kullanımı yoğurtların enstrümental tekstürel özelliklerini iyileştirirken, *L. acidophilus* içeren yoğurtlar duyuşal açıdan daha çok beğenilmiştir.

Sonuç olarak stevianın *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* türlerinin gelişimini ve aktivitesini attırdığı *in vitro* çalışmalar ile belirlenmiş, potansiyel prebiyotik kaynak ve şeker ikamesi olarak şeker oranı azaltılmış süt ürünlerinde kullanılabileceği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, prebiyotik, stevia, inülin, *in vitro*, yoğurt

2019, vii + 122 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

EVALUATION of BACTERIAL VIABILITY and PRODUCT PROPERTIES of PROBIOTIC YOGURT with STEVIA

Ezgi EROGLU

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

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Tülay OZCAN

In this study, the ability utilising stevia added to non-carbohydrate containing TPY (Tryptone Peptone Yeast Extract) and MRS (Man, Rogosa and Sharpe) basal media under *in vitro* conditions by probiotic strains of *Bifidobacterium animalis* subsp. and *Lactobacillus acidophilus* was investigated. The basal media were supplemented with 0.025% and 1% stevia, 0.025% stevia + 1% inulin, %1 stevia + 1% inulin and 2% culture and incubated for 48 hours at 37 ° C under anaerobic conditions. The medium which contained no carbohydrate was designated as negative control, whereas the media containing 1% glucose or inulin were evaluated as positive. Samples were collected from the cultures developed in basal media on the 0, 12, 24, 36 and 48 hours of fermentation. The samples were analysed for pH, cell density (OD₆₀₀), probiotic bacteria counts, prebiotic activity score (PAS), lactic acid and short chain fatty acids (SCFA) content. In the second stage of the study probiotic yogurt supplemented with stevia was manufactured and the potential prebiotic activity of stevia and its effect on yogurt characteristics as sugar substitute were evaluated.

Depending on the acidity development during fermentation, the cell density (OD₆₀₀) values of *B. animalis* subsp. *lactis* and *L. acidophilus* showed an increase and the highest bacterial fermentation was observed in *L. acidophilus* yogurt. The best growth medium for probiotic bacteria was 0.025% stevia and 0.025% stevia + 1% inulin. *B. animalis* subsp. *lactis* and *L. acidophilus* were able to ferment stevia whilst addition of inulin increased the bacterial growth. Microbiological, physicochemical (titratable acidity, syneresis, color (*L*, *a* and *b*), textural (firmness, consistency, cohesiveness and viscosity index) and sensorial (appearance, structure and texture, odor, color, aroma density, taste, sensory acidity and general acceptability) properties of yogurt samples were determined on the 1, 7, 14, 21 and 28 days of storage. The counts of probiotic bacteria remained within the biotherapeutic level (> 7 log kob/mL) during storage in yogurt samples containing stevia and inulin. Yoghurts containing *B. animalis* subsp. *lactis* have improved the instrumental textural properties, whereas yoghurts containing *L. acidophilus* had higher scores for sensorial attributes.

Consequently, it was found that stevia improved the survival and activity of *B. animalis* subsp. *lactis* and *L. acidophilus* species *in vitro*, and could be assigned as a potential prebiotic source and sugar substitute for manufacturing of sugar-reduced dairy products.

Key words: Probiotic, prebiotic, stevia, inulin, *in vitro*, yogurt

2019, vii + 122 pages.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Tülay Özcan danışmanlığında tarafımda hazırlanmış, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne yüksek lisans tezi olarak sunulmuştur. Çalışmada stevianın probiyotik potansiyelinin *in vitro* şartlarda incelenmesi ve stevianın potansiyel prebiyotik ve şeker ikamesi olarak kullanıldığı probiyotik yoğurtlarda ürün özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

İki yıllık yüksek lisans eğitimim süresince ve tez çalışmamın planlanması, araştırılması, yürütülmesi aşamalarında destek ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübesiyle çalışmama ışık tutan kıymetli danışmanım Doç. Dr. Tülay Özcan'a saygı, sevgi ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmama değerli bilgi ve görüşleriyle katkı sağlayan kıymetli hocam Doç. Dr. Lutfiye Yılmaz Ersan'a, tecrübelerini her daim benimle paylaşarak yol gösteren Dr. Berrak Delikanlı Kıyak'a, bu zorlu sürecin her aşamasında bana yardımcı olan değerli arkadaşlarım Mervenur Kandil, Selen Koçakoğlu ve Nebi Bilgi'ye teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her daim yanımda olan, bu çalışmamın başarıyla sonuçlanmasında büyük paya sahip sevgili annem Süheyla Eroğlu ve babam Yusuf Eroğlu başta olmak üzere tüm aile fertlerime teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ezgi EROĞLU
27/03/2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	5
2.1. Probiyotikler ve Prebiyotikler.....	10
2.2. Stevia: Özellikleri ve Süt Ürünlerinde Kullanımı.....	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	36
3.1. Materyal.....	36
3.1.1. Kullanılan mikroorganizmalar	36
3.1.2. Yağsız süt tozu.....	36
3.1.3. Stevia	37
3.1.4. İnülin	37
3.2. Yöntem	39
3.2.1. Probiyotik bakteri gelişiminin <i>in vitro</i> şartlarda incelenmesi.....	39
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in aktive edilmesi	39
3.2.2. Stevia katkılı probiyotik yoğurt üretimi ve uygulanan analizler	45
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	52
4.1. Stevianın prebiyotik potansiyelinin <i>in vitro</i> koşullarda araştırılması	52
4.1.1. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in <i>in vitro</i> koşullarda gelişiminin belirlenmesi	52
4.1.2. <i>L. acidophilus</i> 'un <i>in vitro</i> koşullarda gelişiminin belirlenmesi	59
4.1.3. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> ve <i>L. acidophilus</i> 'un besiyeri örneklerindeki gelişme oranlarının karşılaştırılması	63
4.1.4. Stevianın prebiyotik aktivite skorunun (PAS) belirlenmesi	68
4.1.5. Laktik asit ve kısa zincirli yağ asitleri (KZYA).....	71
4.2. Stevia içeren yoğurtların özelliklerinin belirlenmesi	77
4.2.1. Stevia içeren yoğurtların mikrobiyolojik özellikleri	77
4.2.2. Stevia içeren yoğurtların fizikokimyasal özellikleri	81
4.2.3. Stevia içeren yoğurtların tekstürel özellikleri.....	87
5. SONUÇ	102
KAYNAKLAR.....	106
ÖZGEÇMİŞ.....	122

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklama

dk	Dakika
g	Gram
g/L	Gram/Litre
gs	Gramsaniye
H ₂	Hidrojen
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
COO ⁻	Karboksil Grubu
CO ₂	Karbondioksit
kcal/g	Kilokalori/Gram
kPa	Kilopascal
L	Litre
CH ₄	Metan
mL	Mililitre
°C	Santigrat Derece
NaCl	Sodyum klorür
%	Yüzde-Değer

Kısaltmalar

Açıklama

ANOVA	Analisis of Variance (Varyans Analizi)
AB	Avrupa Birliği
MRS	de Man, Rogosa and Sharpe
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)
FOS	Fruktooligosakkarit
GOS	Galaktooligosakkarit
GIS	Gastrointestinal Sistem
GRAS	Generally Recognized As Safe (Genellikle Güvenli Olarak Kabul Edilen)
GI	Glisemik İndeks
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği)
IMO	İzomaltooligosakkarit
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (Gıda Katkı Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzman Komitesi)
KZYA	Kısa Zincirli Yağ Asitleri
XOS	Ksilooligosakkarit
LAB	Laktik Asit Bakterileri

LSD	Least Significant Difference (En Küçük Anlamlı Fark)
MOS	Mannooligosakkarit
ns	Not Significant (Önemli Değil)
OD	Optik Yoğunluk
PAS	Prebiyotik Aktivite Sayısı
QPS	Qualified Presumption of Safety (Nitelikli Güvenlik Varsayımı)
SOS	Soya oligosakkaritleri
TOS	Transoligosakkarit
TPY	Tripton Pepton Maya Ekstrakt
TS	Türk Standardı
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Probiyotik seçiminde dikkat edilen kriterler.....	11
Şekil 2.2. Probiyotiklerin yaşayabilirliğini etkileyen önemli faktörler	15
Şekil 2.3. İnülinin kimyasal yapısı	18
Şekil 2.4. İnülinin sağlık ve beslenme üzerine etkileri	19
Şekil 2.5. <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	23
Şekil 2.6. (A) Steviol omurga (R1 = R2 = H) ve (B) izosteviol.....	24
Şekil 2.7. Stevia üretimi akış diyagramı	27
Şekil 2.8. Stevianın insan sağlığı üzerine başlıca olumlu etkileri	29
Şekil 3.1. Probiyotik yoğurt üretimi	47
Şekil 3.2. Hunter sistemindeki <i>L</i> , <i>a</i> ve <i>b</i> parametrelerinin renk skalası.....	49
Şekil 4.1. Fermantasyon süresince besiyeri örneklerinde pH (a), OD ₆₀₀ (b) değerleri ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> sayısı (log ₁₀ kob/mL) (c).....	58
Şekil 4.2. Fermantasyon süresince besiyeri örneklerinde pH (a), OD ₆₀₀ (b) değerleri ve <i>L. acidophilus</i> sayısı (log ₁₀ kob/mL) (c)	64
Şekil 4.3. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> ve <i>L. acidophilus</i> 'un 48 saatlik fermantasyon süresince besiyeri örneklerinde meydana gelen pH, OD ₆₀₀ değerleri ve probiyotik bakteri sayıları (log ₁₀ kob/mL)	67
Şekil 4.4. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> ve <i>L. acidophilus</i> 'un 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerinde meydana gelen laktik asit ve toplam KZYA miktarları (g/L) ⁺	77
Şekil 4.5. Depolama süresi boyunca kontrol ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerindeki probiyotik bakteri sayısının (log ₁₀ kob/g) değişimi.....	80
Şekil 4.6. Depolama süresi boyunca kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinde titrasyon asitliği (%) (a) ve serum ayrılması (ml/25g) (b) değerleri	84
Şekil 4.7. Depolama süresi boyunca kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinde <i>L</i> (a), <i>a</i> (b) ve <i>b</i> (c) değerleri.....	88
Şekil 4.8. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin depolama süresince sıklık (g) (a), konsistens (gs) (b), iç yapışkanlık (g) (c) ve viskozite indeksi (gs) (d) değerleri	97
Şekil 4.9. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin (a) depolama süresince (b) duysal özellikleri.....	102

ÇİZELGELER

	Sayfa
Çizelge 2.1. Türkiye’de içme sütü üretim miktarları (ton/yıl)	7
Çizelge 2.2. Türkiye’de yoğurt üretim miktarları (ton/yıl)	7
Çizelge 2.3. Probiyotik mikroorganizmalar	13
Çizelge 2.4. Gıdalarda kullanılan prebiyotik bileşenle	17
Çizelge 2.5. Çeşitli inülin kaynakları.....	20
Çizelge 2.6. İnülinin gıdalarda kullanımı.....	21
Çizelge 2.7. Sinbiyotik yoğurt üretimine dair bazı çalışmalar	22
Çizelge 2.8. Steviol glikozitlerin kimyasal yapı ve özellikleri.....	25
Çizelge 2.9. Stevia yapraklarından izole edilen diterpen glikozitlerin göreceli tatlılık derecesi.....	26
Çizelge 2.10. Tatlandırıcıların sınıflandırılması.....	30
Çizelge 2.11. Türkiye’de gıdalarda kullanımına izin verilen tatlandırıcılar	31
Çizelge 3.1. Yağsız süt tozunun bileşimi	36
Çizelge 3.2. Stevia ürün özellikleri.....	37
Çizelge 3.3. İnülin ürün özellikleri.....	38
Çizelge 3.4. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> için temel gelişme ortamı bileşimi.....	40
Çizelge 3.5. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> için asıl gelişme ortamı olan TPY sıvı besiyerinin bileşimi.....	40
Çizelge 3.6. <i>L. acidophilus</i> için asıl gelişme ortamı olan MRS Broth sıvı besiyerinin bileşimi.....	41
Çizelge 4.1. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> ’in 48 saatlik fermantasyonu süresince besiyeri örneklerindeki pH, OD ₆₀₀ değişimi ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> sayısı (log ₁₀ kob/mL)	54
Çizelge 4.2. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> ’in 48 saatlik fermantasyonu süresince besiyeri örneklerinin pH, OD ₆₀₀ değerleri ve <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> sayısı (log ₁₀ kob/mL)’na ait LSD testi sonuçları.....	56
Çizelge 4.3. <i>L. acidophilus</i> ’un 48 saatlik fermantasyonu süresince besiyeri örneklerindeki pH ve OD ₆₀₀ değişimi ile <i>L. acidophilus</i> sayısı (log ₁₀ kob/mL).....	60
Çizelge 4.4. <i>L. acidophilus</i> ’un 48 saatlik fermantasyonu süresince besiyeri örneklerinin pH ve OD ₆₀₀ değerleri ile <i>L. acidophilus</i> sayısı (log ₁₀ kob/mL)’na ait LSD testi sonuçları	61
Çizelge 4.5. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> ve <i>L. acidophilus</i> ’un 48 saatlik fermantasyon süresince besiyeri örneklerinin pH ve OD ₆₀₀ değerleri ile bakteri sayısı (log ₁₀ kob/mL)’na ait LSD testi sonuçları.....	65
Çizelge 4.6. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> ve <i>L. acidophilus</i> ’un %1 stevia katkılı besiyeri örneklerindeki PAS değerleri	69
Çizelge 4.7. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> ve <i>L. acidophilus</i> ’un %1 stevia katkılı besiyeri örneklerindeki PAS değerlerine ait LSD testi	70
Çizelge 4.8. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> ’in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarları (g/L)	71

Çizelge 4.9. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 'in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik, bütirik asit miktarlarına (g/L) ait LSD testi sonuçları	72
Çizelge 4.10. <i>L. acidophilus</i> 'un 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarları (g/L)	73
Çizelge 4.11. <i>L. acidophilus</i> 'un 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarlarına (g/L) ait LSD testi sonuçları	74
Çizelge 4.12. <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> ve <i>L. acidophilus</i> 'un 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda stevia içeren besiyeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik, bütirik asit ve toplam KZYA miktarlarına (g/L) ait LSD testi sonuçları	76
Çizelge 4.13. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerindeki probiyotik bakteri sayısı (\log_{10} kob/g) değişimi	78
Çizelge 4.14. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerindeki probiyotik bakteri sayısına (\log_{10} kob/g) ait LSD testi sonuçları	80
Çizelge 4.15. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinde titrasyon asitliği (%) ve serum ayrılması (ml/25g) değerleri	82
Çizelge 4.16. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinde titrasyon asitliği (%) ve serum ayrılması (ml/25g) miktarına ait LSD testi sonuçları	83
Çizelge 4.17. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin <i>L</i> , <i>a</i> ve <i>b</i> değerlerindeki değişim	86
Çizelge 4.18. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin <i>L</i> , <i>a</i> ve <i>b</i> değerlerine ait LSD testi sonuçları	87
Çizelge 4.19. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin tekstürel özellikleri	91
Çizelge 4.20. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin tekstürel özelliklerine ait LSD testi sonuçları	95
Çizelge 4.21. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin duyuşal değerlendirme puanları	98
Çizelge 4.22. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin duyuşal değerlendirmesine ait LSD testi	99

1. GİRİŞ

Probiyotik ve prebiyotikleri içeren süt ürünleri fonksiyonel gıda pazarının önemli bir parçasını oluşturmakta, besleyici ve fizyolojik fonksiyonları ile tüketici ve gıda endüstrisinin dikkatini çekmektedir. Probiyotikler, yeterli miktarda alındığında konakçının bağırsak mikrobiyotasını olumlu yönde etkileyen canlı mikroorganizmalar olarak belirtilirken; prebiyotikler, probiyotik bakterilerin gelişimini stimüle eden ve aktivitelerini arttıran, sindirilemeyen gıda bileşenleri olarak tanımlanmaktadır. Sinbiyotik terimi ise gastrointestinal sistemdeki seçilmiş canlı mikrobiyel suşların hayatta kalmasını ve implantasyonunu arttırarak konakçı sağlığını olumlu bir şekilde etkileyen probiyotik ve prebiyotiklerin kombinasyonudur. Sinbiyotikler, probiyotik mikroorganizmalar ve prebiyotik substratların tek başına kullanımına göre daha fazla terapötik etki sağlamaktadırlar (Gibson ve ark. 2004, Oflaherty ve ark. 2010, Heydari ve ark. 2011, Özcan 2012).

Gastrointestinal sistem, karmaşık bir mikroorganizma ekosistemidir ve yetişkin bir insanın bağırsak mikrobiyotası 400'den fazla bakteri türünü içermektedir. Gastrointestinal sistem mikrobiyotası sindirilemeyen karbonhidratları fermente ederek; asetik, propiyonik ve bütirik asit gibi kısa zincirli yağ asitleri (KZYA); laktik, süksinik ve pürivik asit gibi organik asitler ile H₂, H₂S ve CH₄ gazları gibi fermantasyon ürünlerini oluşturarak "bifidojenik etki" göstermektedir. Fermantasyon sonucu oluşan metabolitlerin sağlık üzerine olumlu etkileri sebebiyle bağırsak mikrobiyotasını iyileştirici ve zenginleştirici diyet uygulamalarında probiyotik ve prebiyotikler önem kazanmaktadır (Pedreschi ve ark. 2003, Van der Meulen ve ark. 2004, Wang ve ark. 2010).

Son yıllarda, değişen yaşam koşullarına bağlı olarak şekillenen beslenme alışkanlıkları şeker oranı yüksek gıdaların tüketiminde artışa neden olmuştur. Yüksek oranda şeker tüketiminin kronik hastalıklar ile ilişkilendirilmesiyle diyetlerdeki enerji yoğunluğunun ve şeker tüketiminin azaltılmasını temel alan çalışmalar son yıllarda giderek hız kazanmaktadır. Bununla birlikte diyetlerde enerji dengesinin sağlanması ve sağlıklı beslenme konusunda farkındalığın da artması; şeker oranı azaltılmış gıdalara olan talebi

ve pazardaki arz-talep dengesini etkilemekte, gıda endüstrisini şeker oranı azaltılmış gıdaların üretimi için teşvik etmektedir (Rogers ve ark. 2016, Özcan ve ark. 2017).

Dünya genelinde yaygınlaşan obezite; yetersiz fiziksel aktivite, hormonal sorunlar ve hareketsiz yaşam tarzının yanı sıra birçok psikolojik sorunun sonucu olarak görülmekte fakat kötü beslenme alışkanlıkları en önemli faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüz diyetlerinin ortak bileşeni olan şekerin hem yetişkinlerde hem de çocuklarda obezite ve diş hastalıkları da dahil olmak üzere bir takım sağlık sorunlarına sebep olması, besleyici değeri olmayan tatlandırıcıların kullanımının hızlı bir şekilde artmasının en temel nedenini oluşturmaktadır. Söz konusu hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan en yaygın yöntem diyet düzenlemeleri olmakta; ancak gıdalarda şeker yerine kullanılan besleyici olmayan tatlandırıcılar obezite ve metabolik bozukluk riskini de artırabilmektedir. Süt ürünlerinin üretiminde kullanılan şeker, ürünün yapısal ve duyuşal özellikleri üzerinde etkili olmakta; şeker içeriğinin azaltılması amacıyla ürünün tatlandırıcılar veya şeker ikameleri ile yeniden formüle edilmesinde gıda endüstrisi teknolojik ve duyuşal karakteristiklerin korunabilmesi açısından zorluklar yaşamaktadır (Swithers 2013, Sylvetsky ve Rother 2016).

Son yıllarda yapılan araştırmalar yapay şekerler ile tatlandırılmış süt ürünlerine odaklanmaktadır (Aida 2009, McCain ve ark. 2018). Steviosid, Asteraceae ailesine ait *Stevia rebaudiana* Bertoni bitkisinden ekstrakte edilen tatlı bir glikozittir. Bu bitki Güney Amerika'ya özgüdür fakat Çin, Malezya, Singapur, Güney Kore, Tayvan ve Tayland gibi pek çok ülkede tatlı yaprakları için yaygın bir şekilde yetiştirilmektedir. Stevia; şekerleme yaprağı, tatlı yaprağı, şeker yaprağı veya bal yaprağı olarak da adlandırılmaktadır. *S. rebaudiana* yapraklarının yüksek tatlılık derecesi ve potansiyel terapötik özellikleri pek çok ülkede ekonomik ve bilimsel açıdan ilgi uyandırmaktadır. Sakkaroz kullanımı ile ilgili olarak diş çürükleri, obezite ve şeker hastalığı gibi sağlık sorunlarının artışı stevia bitkisinin içerdiği tatlandırıcı bileşiklerin kullanımını yaygınlaştırmaktadır (Brownawel 2012).

Steviol glikozitler olarak adlandırılan diterpenler (kuru yaprak içinde yaklaşık %4-20), steviadan ekstrakte edilen düşük kalorili doğal tatlandırıcı gruplardır. Diterpenler;

steviosid, steviolbiosid, rebaudiosid A, B, C, D, E, F, M ve dulcosid olarak tanımlanmaktadır. Yabani stevia bitkilerinin yaprakları %0,4-0,7 dulcosid, %1-2 rebaudiosid C, %6-8 rebaudiosid A ve %9-13 steviosid içermektedir (Geuns 2000, Geuns ve ark. 2007, Gardana ve ark. 2010).

Stevia dünya pazarında yeni ve umut verici doğal, kalorisiz bir bitki olarak dikkat çekmektedir. Stevia şekerden 250-300 kat daha tatlıdır ve bu özelliği ile sakkaroz/şeker ikamesi veya yapay tatlandırıcılara alternatif olarak uygulama alanı bulmaktadır (Anton ve ark. 2010, Goyal ve ark. 2010). Stevia; antihipertansif, antihiperglisemik, antiinflamatuvar, antitümör, antidiyare, diüretik, kariojenik olmayan özelliği ve immünomodülatör etkisi ile insan sağlığını olumlu yönde değiştirmektedir (Lee ve ark. 2001, Goyal ve ark. 2010, Yoneda ve ark. 2018).

Stevia, tatlandırıcı etkisi olan steviol glikozidlerin yanı sıra içerdiği fitokimyasallar özellikle de önemli antioksidan aktiviteye sahip polifenoller, klorofiller, karotenoidler ve tanenler gibi biyolojik olarak aktif bileşenlerle karakterize edilen besleyici ve kimyasal bileşimi nedeniyle son yıllarda giderek önem kazanmıştır. Buna ek olarak stevia yaprakları da yüksek oranda amino asit, mineral, lif, lipid, uçucu yağlar, serbest şekerler, oligosakaritler, askorbik asit, kalsiyum, fosfor, magnezyum ve demir içeriği ile önemli fonksiyonel etkiye sahip bulunmaktadır (Lemus-Mondaca ve ark. 2012).

Son yıllarda gıda sanayinde stevia tatlandırıcıları, steviol glikozitleri veya ham yaprak özleri/ekstraktları aromalı buzlu çay, meyve/sebze suları, sporcu içecekleri, aromalı süt ve yoğurt gibi ürünlerde kullanılmaktadır (Kinghorn 2003, Hossain ve ark. 2010).

Steviosid, gastrointestinal sistemde hidrolize olarak steviol ve glikoza dönüşmektedir (Koyama ve ark. 2003). Steviol glikozitlerinin insan bağırsak mikrobiyotasının glikosidaz aktivitesi (örn; *Bacteroides* sp.) sonucunda steviole metabolize edildiği ve prebiyotik özellik gösterdiği belirtilmektedir (Gardana ve ark. 2003, Purkayastha ve ark. 2016).

Bağırsak sağlığının korunmasına yönelik bilincin artması probiyotik suşları içeren fonksiyonel gıdalara olan ilgiyi arttırmıştır. Bunun bir sonucu olarak doğal ya da yapay

tatlandırıcılar kullanılarak üretilmiş sade, meyveli, aromalı ve diyetetik probiyotik/fonksiyonel ticari gıdaların üretimi de bu fonksiyonel pazarda giderek yaygınlaşmaktadır (Tripathi ve Giri 2014). Son yıllarda şişmanlık ve kronik hastalıklar ile beslenme arasındaki ilişki sakkarozla tatlandırılmış ürünlere dikkat çekmektedir (Lisak ve ark. 2011, Weber ve Hekmat 2013). Bununla birlikte, farklı yapay tatlandırıcıların ve özellikle stevianın fermente süt ürünlerindeki probiyotik mikroorganizmalar üzerindeki etkisi hakkında çok az çalışma bulunmaktadır.

Bu çalışmada, ülkemizde üretim ve tüketimi giderek yaygınlaşan probiyotik süt ürünlerinde şeker ikamesi olarak kullanılan stevianın *in vitro* koşullarda ve yoğurt sisteminde probiyotik olarak kullanılan *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* ve *Lactobacillus acidophilus*'un gelişimi, canlılığı ve yoğurdun fizikokimyasal, tekstürel ve duyuşsal özellikleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında;

- I) *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* ve *Lactobacillus acidophilus* türünün stevia içeren besi ortamında gelişme yeteneğinin incelenmesi,
- II) Prebiyotik aktivite sayısının belirlenmesi,
- III) Prebiyotik karbonhidrat fermantasyonu sonucu oluşan ve bağırsakta pH'yı düşürerek istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesini engelleyen kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) gibi fermantasyon son ürünleri konsantrasyonlarının saptanması,
- IV) Stevia katkılı probiyotik yoğurtların kalite parametrelerinin incelenmesi gerçekleştirilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

Son yıllarda sağlıklı bir yaşam tarzını benimseyen tüketicilerin talep ve ihtiyaçları nedeniyle fonksiyonel gıdalar giderek önem kazanmaktadır. Fonksiyonel gıdaların; temel beslenmenin yanı sıra, sağlığın korunması ve hastalıkların tedavi edilmesindeki önemi popülaritesinin artmasına sebep olmaktadır (Behare ve ark. 2016, Bosnea ve ark. 2017). Beslenme ve fizyolojik fonksiyonları sebebiyle fermente süt ürünleri de günümüzde fonksiyonel gıdalar arasında ilgi odağı haline gelmiştir (Bell ve ark. 2017, Fazilah ve ark. 2018).

Türk Gıda Kodeksi'nde fermente süt ürünleri; 'sütün uygun mikroorganizmalar tarafından fermentasyonu 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 (Anonim 2009). Fermente süt ürünleri yoğurt, asidofilus sütü, ayran, kefir, kıymız, peynir gibi sade, aromalı veya konsantre edilmiş pek çok süt ürününü ifade etmektedir (de Oliveira 2014). Geleneksel fermente süt ürünlerinden biri olan yoğurt; tüm fermente süt ürünleri arasında en besleyici ürünlerden biri olarak kabul görmekte ve temeli çok eskilere dayanmaktadır (Behare ve ark. 2016).

Yoğurdun, MÖ 8.000 yıllarında memeli hayvanların evcilleştirilmesiyle başlayan süreçte ilk kez göçebe Türk kavimleri tarafından üretildiği düşünülmektedir (Özden 2008, Kızılaslan ve Solak 2016). Paris Enstitüsü'nde bilim insanı olan Metchnikoff'un 1908 yılında yoğurt üzerine yaptığı araştırmayla Nobel ödülü kazanması ve uzun yaşamın sırrı olarak gördüğü yoğurdun tüketimini tavsiye etmesi yoğurda olan talebi arttırmıştır (Donkor ve ark. 2006, Vasiljevic ve Shah 2008). Günümüzde de insan diyetinin önemli bir parçası olan yoğurdun besleyici değeri oldukça yüksektir ve terapötik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Fernandez ve ark. 2017, Rizzoli ve Biver 2017, Demirgöl ve Sağdıç 2018).

Bir gıda maddesinin potansiyel besin değeri, kimyasal bileşimine ve gastrointestinal sistemde sindirilme derecesine bağlı bulunmaktadır (Tamime ve Robinson 2007, Gahrue

ve ark. 2015). Süt ve yoğurdun kimyasal bileşimi benzerlik göstermekle birlikte fermantasyondan kaynaklanan birtakım değişiklikler sözkonusu olmaktadır. Sütün yoğurda dönüşümünde *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* türleri rol oynamakta ve laktik asit fermantasyonunu gerçekleştirmektedir. Esansiyel amino asit bileşimi ile kazein ve peyniraltı suyu proteinlerini içeren sütün fermantasyonu sonucunda, kuru madde miktarının artmasına bağlı olarak protein ve amino asit içeriğinin yanı sıra yağ ve vitaminler açısından da biyolojik bir zenginleşme meydana gelmektedir (Tamime ve Robinson 2007).

Süt; ideal bir protein, yağ ve vitamin kaynağı olmasına karşın laktoz intoleransına bağlı olarak dünyanın birçok bölgesinde gastrointestinal sorunlara yol açabilmektedir. Laktik asit fermantasyonu ile; yoğurtta laktoz oranı düşmekte ve laktozu tolere edemeyen bireyler için üstün lezzetli ve güvenli bir alternatif ürün oluşmaktadır. Laktik asit fermantasyonu aynı zamanda tat ve aromanın gelişiminde de etkili olmaktadır (Misselwitz ve ark. 2013, Deng ve ark. 2015, Fu ve ark. 2018).

Yoğurdun bileşimi; başlangıç kültürü olarak kullanılan suşlar, süt türleri (yağlı, yarım yağlı veya yağsız süt), sütün elde edildiği kaynak (inek, keçi, koyun, manda sütü vs.), ilave edilen tatlandırıcılar ve lezzet verici maddeler, fermantasyon koşulları gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Weerathilake ve ark. 2014, Chandan ve ark. 2017). Buna rağmen yoğurdun; protein, kalsiyum, fosfor, riboflavin, B₆ vitamini ve B₁₂ vitamini bakımından zengin olduğu için süttten daha fazla besinsel içeriğe sahip olduğu da düşünülmektedir (Barzoi ve Apostu 2002, Ashraf ve Shah 2011). Buna ek olarak kolon kanseri, diyare, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve diğer bakteriyel enfeksiyonlar gibi gastrointestinal sistem hastalıklarının, kardiyometabolik hastalıkların ve osteoporozun yoğurt tüketimiyle engellenebileceği; yoğurdun sindirim sürecine yardımcı olabileceği ve bağışıklığı arttırabileceği klinik çalışmalarla belirlenmiştir. Yoğurdun içerdiği mikroorganizmalar bağırsakta mikrobiyota modülasyonunu sağlamakta ve yüksek asitliği sebebiyle kalsiyum emilimi artmaktadır (Shah 2006, Mazahreh ve Ershidat 2009, Hassan ve Amjad 2010, McFarland 2015, Fazilah ve ark. 2018).

Yoğurt tüketimi kilo kontrolüne uygundur; besin değerinin yüksek olmasının yanı sıra vücutta enerji dengesini sağlamakta ve diyetlerde yüksek kalorili gıdaların tüketimine alternatif oluşturmaktadır (Fernandez ve ark. 2017). Yapılan bir araştırma; haftada en az 7 porsiyon yoğurt tüketiminin, düşük (haftada 1 ila 2 porsiyon) tüketim ile karşılaştırıldığında daha düşük obezite insidansı ile sonuçlandığını ortaya çıkarmıştır (Martinez-Gonzalez ve ark. 2014).

2017 yılı TÜİK verilerine göre kişi başına düşen içme sütü tüketim miktarının yaklaşık olarak 40,7 kg/yıl olduğu düşünülmektedir. Türkiye’de son yıllarda üretilen içme sütü üretim miktarları ise Çizelge 2.1’de belirtilmektedir (TÜİK, 2017).

Çizelge 2.1. Türkiye’de içme sütü üretim miktarları (ton/yıl)

Yıl	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Üretim miktarı (ton/yıl)	1 250 168	1 323 942	1 325 548	1 378 524	1 433 541	1 547 844

Türkiye’de içme sütünden sonra sütün en çok işlendiği ve en fazla tüketilen süt ürünü kültürümüzde de önemli bir yeri olan yoğurttur. FAO’dan elde edilen verilere göre Türkiye, yoğurt üretimi ve tüketimi açısından dünyada üçüncü sırada yer almaktadır (Kızılaslan ve Solak 2016). Çizelge 2.2’de son 6 yılın yoğurt üretim miktarları görülmektedir. 2017 yılı kişi başına düşen yıllık yoğurt tüketimi 31 kg olarak belirlenmiştir (TÜİK, 2017).

Çizelge 2.2. Türkiye’de yoğurt üretim miktarları (ton/yıl)

Yıl	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Üretim miktarı (ton/yıl)	1 052 658	1 081 411	1 101 261	1 123 017	1 173 577	1 172 195

2009/25 No’lu Fermente Süt Ürünleri Tebliği’ne göre yoğurt, fermantasyonda spesifik olarak *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbruecki* subsp. *bulgaricus*’un sinbiyotik kültürlerinin kullanıldığı fermente süt ürünüdür (Anonim 2009). TS Yoğurt Standardı’na göre ise; inek sütü, koyun sütü, manda sütü, keçi sütü veya karışımlarının

pastörize edilmesi veya pastörize sütün, gerektiğinde süt tozu ilavesiyle homojenize edilip veya edilmeden yoğurt kültürünün ilave edilmesi ve 40-45°C’de fermantasyonun gerçekleşmesiyle elde edilen mamüldür (Anonim 2006). Sütün starter kültür ile inoküle edilerek paketlenmesi ve inkübasyona bırakılmasıyla *Set tipi*, starter kültür ile inoküle edilip inkübasyon sonrasında pıhtının kırılması ve homojen hale getirilmesiyle ise *Stirred tipi* yoğurt üretimi gerçekleştirilmektedir (Shihata ve Shah 2000, Chaves ve ark. 2002, Purwandari ve ark. 2007, Fazilah ve ark. 2018).

Yoğurt üretiminde starter kültür olarak kullanılan ve yoğurt üretiminden sorumlu olan laktik asit bakterileri süt içerisindeki laktozu fermente ederek pH’yı düşürmekte, kazeinin koagülasyonu ve aroma maddelerinin oluşumuna zemin hazırlamaktadır (Ng ve ark. 2011). Yoğurdun karakteristik tat ve aromasını meydana getiren en önemli bileşik asetaldehittir. Buna ek olarak laktik asit ve diğer organik asitler, diasetil, etanol, aseton gibi ikincil metabolitler de tat ve aroma üzerinde etkili olmaktadır (Vinogradov ve ark. 2015).

Yoğurt bakterilerinden *Streptococcus thermophilus* homofermentatif, gram pozitif fakat katalaz negatif özelliktedir. Küresel veya oval morfolojiye sahip olan bakteri, genellikle hareketsizdir. Termofilik karakterli oldukları için 45-52°C’de gelişebilmekte, optimum gelişme sıcaklığı 42°C olarak bilinmektedir. Aerobik ve fakültatif anaerobik özellik gösteren bakteri spor oluşturmamaktadır. Optimum gelişme pH’sı 6,0-6,5’tir ve proteolitik aktivitesi zayıftır. Ayrıca *S. thermophilus* “genel olarak güvenli” (GRAS) şeklinde sınıflandırılan ve “nitelikli güvenlik varsayımı” (QPS) statüsü ile onaylanan tek streptokok türü olarak kabul edilmektedir (Jans ve ark. 2012, Uriot ve ark. 2017).

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* hareketsiz, gram pozitif ve katalaz negatif özellik göstermektedir. Çubuk şeklinde morfolojiye sahip olan bakteri anaerobik ve homofermentatiftir. Hücreleri tekli veya zincir halinde bulunabilmektedir. Optimum gelişme pH’sı 5,2-5,5; optimum gelişme sıcaklığı ise 42-45°C’dir. Proteolitik aktivitesi zayıf olmasına karşın *Streptococcus thermophilus*’a göre daha fazladır. Laktozu fermente etme yeteneği oldukça yüksektir, glukoz, fruktoz ve galaktozu da kullanabilmektedir (Wang ve ark. 2016, Ai ve ark. 2017, Han ve ark. 2018).

Streptococcus thermophilus ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sinbiyotik bir ilişki içerisinde yoğurdun aromatik ve tekstürel özelliklerinden etkili olmaktadır. *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un büyümesini uyaran laktik asit, formik asit ve CO₂ üretmekte; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ise *Streptococcus thermophilus*'un büyümesini teşvik eden peptitleri ve amino asitleri üreten süt proteinlerini hidrolize etmektedir. Yoğurt pH'sının 5,0'e kadar düşüşünden *Streptococcus thermophilus* sorumludur. Ortam asitliğinin artması *Streptococcus thermophilus*'u inhibe ederken, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un çoğalıp metabolik aktivite göstermesini desteklemektedir (Talon ve ark. 2002, Uriot ve ark. 2017).

Yoğurt üretiminde en önemli aşama sütün pıhtılaşmasıdır. Sütün %80'ini pıhtılaşmada etkili olan kazein (α_{s1} -, α_{s2} -, β - ve κ -kazein), %20'sini ise serum proteinleri oluşturmaktadır. Isıya duyarlı serum proteinleri globüler yapıda olup, β -laktoglobulin (%50), α -laktalbümin (%20), immünoglobulinler (%10), serum albümini (%10), proteoz-peptonlar (%10) ve diğer minör protein fraksiyonları (laktoferrin vb.) ile ifade edilmektedir (Gür ve ark. 2010). Yoğurdun yapısını oluşturan pıhtı; yüksek ısıl işleme (>65°C) tabi tutulduğunda denatüre olan serum proteinleri ve koagüle olan kazeinin birlikte pıhtılaşması sonucu meydana gelmektedir. Kazein miselleri, laktik asit bakterileri (LAB) veya organik asitlerin etkisiyle pH değerinin 6,5'ten 5,2'ye ve bunu takiben izoelektrik nokta olan 4,7'ye düşmesiyle yani oluşan izoelektrik çökeltiler yoluyla toplanmaktadır (Pires ve ark. 2018). Asitliğin artması; misellerden koloidal kalsiyum fosfatın ayrılmasına ve yerine H⁺ gelmesine neden olmaktadır. Kazein miselinin dış yüzeyindeki karboksil grupları (COO⁻) ile ortamdaki H⁺ iyonlarının birleşmesi ‘+’ ve ‘-’ yükün eşitlendiği izoelektrik noktaya kadar devam etmekte ve kazeinin en az çözünürlük gösterdiği bu noktada pıhtı oluşumu tamamlanmaktadır (Jovanovic ve ark. 2007, Ranasinghe ve Perera 2016, Beltrán ve ark. 2018). Depolama esnasında kazein miselleri kırılabilen ve agregatların büyüklüğü azalabilmektedir. Buna bağlı olarak kazein ağı yeniden düzenlenmekte ve sinerezis ortaya çıkmaktadır (Everett ve McLeod 2005, Fazilah ve ark. 2018).

2.1. Probiyotikler ve Prebiyotikler

İlk olarak 1960'larda kullanılan 'probiyotik' kelimesi, 'yaşam için' anlamına gelen Yunanca pro-bios sözcüğünden türetilmiştir. FAO/WHO'ya göre probiyotikler, "yeterli miktarlarda alındığında konakçı üzerinde sağlık yararı sağlayabilen canlı mikroorganizmalar' olarak tanımlanmaktadır. Türlerine göre değişiklik göstermekle birlikte birçok araştırmacı ve sağlık otoritesi tarafından probiyotiklerin 10^6 - 10^7 kob/g düzeyinde alınmasının konakçı üzerinde potansiyel sağlık etkilerinin görülebilmesi için yeterli olduğu kabul edilmektedir. Terapötik etkinin görülebilmesinin, raf ömrü boyunca bu bakterilerin hayatta kalması ve 10^6 - 10^7 kob/g probiyotik içeren gıdadan 100 g tüketilmesi ile mümkün olduğu düşünülmektedir (Nole ve ark. 2014, Akhter ve ark. 2015, Kumar ve ark. 2015, Derikx ve ark. 2016, Dwivedi ve ark. 2016, Vandenplas 2016, Shu ve ark. 2018, Yahfoufi ve ark. 2018).

Probiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki etkisine dair çalışmalar, Metchnikoff'un insan ömrünü uzatmak için laktik asit bakterileri ile fermente edilmiş süt tüketilmesi gerektiğini düşündüğü 1908'e kadar uzanmaktadır. 20. yüzyılın başlarında, Rus bakteriyolog Eli Metchnikoff (Pasteur Enstitüsü, Fransa), fermente sütte bulunan laktik asit bakterilerinin yararlı etkileri hakkında bilimsel bir çalışma yapmıştır. Bulgarların sağlıklı ve uzun yaşamının sırrını, 'yoghurt' olarak adlandırdıkları fermente süt ürününün fazla miktarda tüketimine bağlamıştır. Teorisinin ilkesi, laktik asit bakterilerinin, normal olarak bağırsakta bulunan, toksin üreten bakterilerin büyümesini ve toksisitesini baskılamasıdır (Lourens-Hattingh ve Viljo 2001).

Gıda ürünleri ve formülasyonlarına dahil edilebilen probiyotik mikroorganizmaların insan tüketimi için güvenliğinin değerlendirilmesi, bilimsel kanıtlar ve deneyimler yoluyla güvenli (genel olarak güvenli kabul edilen GRAS statüsü) kabul edilmesi oldukça önemlidir (Kumar ve ark. 2015). Potansiyel probiyotik suşun sağlık iddialarının, güvenlik ve etkinliğinin değerlendirilmesinde; fenotipik ve genotipik yöntemlerle suş tanımlaması, probiyotik suşların taranması, doğrulanmış hayvan modellerinde ve insanlarda klinik değerlendirmeler için in vivo çalışmalar yapılmakta ve etiketleme gereksinimleri (sağlık iddiası, raf ömrü, etkinlik için minimum doz, depolama koşulları) belirlenmektedir. Bir

mikroorganizmanın probiyotik olarak tanımlanması ve ticari uygulamalarda değerlendirilebilmesi için taşıması gereken özellikler Şekil 2.1’de verilmiştir (Anonim 2002, Shah 2006, Morelli 2007, Dixit ve ark. 2013, Tripathi ve Giri 2014).



Şekil 2.1. Probiyotik seçiminde dikkat edilen kriterler

İnsan gastrointestinal sistemi (GİS) yaklaşık olarak 10^{13} - 10^{14} sinbiyotik mikroorganizmaya sahip bir ekosistemdir, bakterilerin yanısıra ökaryotik virüsleri, bakteriyofajları ve mantarları da içermektedir (Bertelsen ve ark. 2016). Doğumdan hemen sonra, steril gastrointestinal sistem florasında birçok bakteri kolonize olarak gelişmektedir. Bir veya iki gün içinde dışkıda Koliformlar, Enterokoklar, Clostridia ve Laktobasiller tespit edilmekte; üç veya dört gün içinde Bifidobakteriler ortaya çıkmakta ve beşinci günde baskın hale gelmektedir. Koliformlar ve diğer bakteriler Bifidobakterilerin artışına bağlı olarak azalmaktadır. İnsanın süten kesilmesi ve yaşlanması ile birlikte bağırsak flora profilinde kademeli değişiklikler meydana gelmekte ve yetişkin bireyde bağırsak mikrobiyotası nispeten stabil kalmaktadır. Stres, diyet,

ilaçlar ve bakteriyel kontaminasyon gibi faktörler bağırsak ortamında mikrobiyel değişikliklere yol açabilmekte; bu dengenin bozulması istenmeyen mikroorganizmaların baskın hale geçmesiyle ve hastalıklarla sonuçlanabilmektedir (Lourens-Hattingh ve Viljoen 2001, Derikx ve ark. 2016).

İnsan vücudundaki bağışıklık sisteminin %70'inin bağırsakta yer aldığı bilinmekte dolayısıyla bağırsak mikrobiyotasının içeriği, yapısı veya işlevindeki değişikliklerin hastalık koşullarıyla ilişkili olduğu ifade edilmektedir. Probiyotikler; bağırsakta mikrobiyel kompozisyonun değiştirilmesi, lokal immün yanıtlarının artırılması, bağırsak pH'nın modifikasyonu, bağırsak fonksiyonlarının iyileştirilmesi ve laktaz üretimi dahil olmak üzere çeşitli potansiyel mekanizmalara sahiptirler. Bağırsak mikrobiyel dengesini adhezyon bölgelerini bloke ederek, patojenlerle besin ve büyüme faktörleri için rekabet ederek ve antimikrobiyel bileşikler üretilip patojenleri antagonize ederek değiştirebilmektedirler (Bermudez-Brito ve ark. 2012, Akhter ve ark. 2015, Fazilah ve ark. 2018).

Sindirim sistemindeki mikrobiyel popülasyonda optimum dengenin iyi bir beslenme ve sağlıkla ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalar "probiyotik" mikroorganizmaların tüketilmesinin, bağırsaklardaki mikrobiyel profilin geliştirilmesi ve korunmasına yardımcı olabileceğini, ayrıca çeşitli terapötik yararlar sağladığını göstermektedir. Probiyotikler; alerjik hastalık, ülseratif kolit, romatoid artrit, kolorektal kanser, depresyon, anksiyete gibi farklı patolojik durumlarda immünomodülatör aktivite göstermektedir. Ayrıca probiyotiklerin; laktoz intoleransını hafifletmek, ishali bastırmak, irritabl bağırsak rahatsızlığı semptomlarını azaltmak, inflamatuvar bağırsak hastalığını engellemek, enfeksiyonların önlenmesine yardımcı olmak, kolesterol seviyelerini düşürmek, vitamin ve sitokin sentezini teşvik etmek, kolon kanseri riskini azaltmak, diyabet ve obezite ile mücadele etmek gibi sağlık faydalarının olduğu bilinmektedir. Antihipertansif ajanlar olarak bilinen probiyotikler perimenopozal tedavilerde de destekleyici rol oynamaktadır (Nole ve ark. 2014, Lichtenstein ve ark. 2016, Singh ve ark. 2018, dos Santos Cruzen ve ark. 2017, Firouzi ve Haghghatdoost 2018, McFarland ve Goh 2018). En yaygın kullanılan probiyotikler, bağırsak mikrobiyotasının bir parçası olan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri olup, probiyotik özelliğe sahip

mikroorganizmalar Çizelge 2.3'te belirtilmektedir (Tripathi ve Giri 2014, Fazilah ve ark. 2018).

Çizelge 2.3. Probiyotik mikroorganizmalar

Lactobacillus türleri	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus cellebiosus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Lactobacillus salivarius</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus johnsonii</i> <i>Lactobacillus curvatus</i>
Bifidobacterium türleri	<i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Bifidobacterium thermophilum</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium adolescentis</i>
Streptococcus, Lactococcus türleri	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Streptococcus intermedius</i> <i>Streptococcus lactis</i>	<i>Lactococcus cremoris</i> <i>Lactococcus diasetilactis</i>
Bacillus türleri	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Bacillus lentus</i>	<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus coagulans</i>
Leuconostoc türleri	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
Propionibacterium türleri	<i>Propionibacterium freudereichii</i> <i>Propionibacterium shermanii</i>	
Bacteriodes türleri	<i>Bacteriodes capillus</i> <i>Bacteriodes suis</i>	<i>Bacteriodes amylophilus</i> <i>Bacteriodes ruminicola</i>
Mayalar	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces boulardii</i>	<i>Candida torulapsis</i>
Küfler	<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus oryzae</i>	

Lactobacillus türleri, vajina ve bağırsaklar dahil olmak üzere farklı vücut bölgelerinde insan mikrobiyotalarının önemli üyelerindedir. *Lactobacillus acidophilus*; gram pozitif, spor oluşturmeyen, çiftler halinde ve tek başına bulunabilen yuvarlak uçlu çubuk şeklinde probiyotik bir bakteridir (dos Santos Cruxen ve ark. 2017). *L. acidophilus*; laktosidin, asidofilin, laktasin B, laktaz F, asitosin A ve asitosin B adı verilen doğal antimikrobiyel maddeler üreterek bağırsak patojenlerini baskı altına almaktadır (Gopal 2011). Bu tür ile

ilişkili sağlık yararları arasında laktoz intoleransı olan bireylerde gastrointestinal semptomların azalması, kabızlık belirtilerinin hafiflemesi, infantil ishalin tedavisi, turist ishalinin önlenmesi ve *Helicobacter pylori* enfeksiyonuna karşı aktivite sayılabilir. *L. acidophilus* fekal bakteriyel β -glukuronidaz ve nitroreduktaz gibi insan fekal bakteriyel enzimlerinin seviyesini olumlu yönde değiştirebilmektedir (Yang ve ark. 2018). Çeşitli çalışmalarda, alerjik ve inflamatuvar hastalıkların önlenmesi ve iyileştirilmesinde *Lactobacillus* türleri başta olmak üzere laktik asit bakterilerinin etkinliği bildirilmektedir (Abdollahzadeh ve ark. 2018, Lee ve ark. 2018, Yadav ve ark. 2018).

Bifidobacterium türleri insan gastrointestinal sistemi ile ilişkili en önemli probiyotik bakteriler arasında yer almaktadır. Gram pozitif, sporsuz ve zorunlu anaerobik olan bu türler dallanmış halde, Y veya V şeklinde görülebilmekte; 36-38°C ve pH 6,5-7,0 aralığında optimum olarak gelişebilmektedir (Bhaskar ve ark. 2017). *Bifidobacterium* türleri yenidoğan bebeklerin steril gastrointestinal kanalında yer alan az sayıdaki organizmalardan biridir. Bugüne kadar, 30'dan fazla farklı *Bifidobacterium* türü tanımlanmıştır. Gastrointestinal sistemde, vajinada ve insanın oral kavitesinde mikrobiyotanın bir parçası olan bu bakteri cinsi karakteristik olarak fruktoz 6-fosfat fosfoketolaz pozitif özelliğe sahip bulunmaktadır (Lugli ve ark. 2018).

Bifidobacterium türlerinin laktik asit ve asetik asit gibi doğal zayıf asitler üreterek bağırsak sisteminde asitliği arttırdıkları, pütrifaktif (çürükçül) bakterilerin üremelerini engelledikleri, bağırsak pH'sını düzenledikleri ve bağırsak rahatsızlıklarını azalttıkları bilinmektedir. Bazı çalışmalarda insanlarda obezite ve diyabet dahil olmak üzere metabolik sendromun önlenmesinde ve kontrolünde bazı *Bifidobacterium* türlerinin antienflamatuvar etkileri bildirilmektedir (dos Santos Cruxen ve ark. 2017, Quigley ve ark. 2017, Fayed ve ark. 2018, Rezazadeh ve ark. 2018). *B. animalis* subsp. *lactis* üzerine yapılan çalışmalara göre; bu bakteri fermente süt ürünleri ile alındığında midede 90 dakika yaşayabilmekte, kolanda büyük ölçüde canlı kalarak gaitada 10^8 kob/g düzeyinde bulunmakta ve düzenli tüketimi halinde gastrointestinal geçiş süresini kısaltmaktadır (Özden 2013). Gıda formülasyonlarına katılarak vücuda alınan probiyotiklerin canlılığını ve bağırsaklardaki kolonizasyonunu etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır (Şekil 2.2) (Tripathi ve Giri 2014).



Şekil 2.2. Probiyotiklerin canlılığını etkileyen önemli faktörler

Prebiyotikler; sindirim sistemindeki bakterilerin büyüme ve/veya gelişmesini seçici olarak uyararak konakçı üzerinde olumlu etkiler gösteren sindirilemeyen fakat fermente olabilen besin bileşenleridir. Başka bir deyişle prebiyotikler, gastrointestinal sistemde sindirime uğramadan kolona ulaşabilen, spesifik bir fermentasyonla mikrobiyota kompozisyonunu prebiyotikler yönüne değiştiren ve böylelikle konakçı sağlığına yarar sağlayan değişikliklere izin veren substratlardır (Nole ve ark. 2014, Akhter ve ark. 2015, Bertelsen ve ark. 2016, Dwivedi ve ark. 2016, Rouhani ve ark. 2018, Singh ve ark. 2018, Yahfoufi ve ark. 2018). Prebiyotikler ilk olarak 1995 yılında Marcel Roberfroid tarafından tanımlanmış ve isimlendirilmiştir (Vandenplas 2016).

Bir besin maddesinin prebiyotik etkiye sahip olabilmesi için; mide asiditesine karşı direnç göstermesi, memeli enzimleri ve gastrointestinal absorpsiyon ile hidrolize olması, kolonda fermente olarak bakterilerinin gelişimi ve/veya aktivitesini seçici olarak uyarması gerekmektedir (Gibson ve ark. 2004, Abed ve ark. 2016). Prebiyotiklerin

potansiyel fizyolojik etkilerinin görülebilmesi için 3-40 g/gün düzeyinde vücuda alınması gerektiği bildirilmektedir (Buriti ve ark. 2016).

Prebiyotikler; kimyasal yapılarına göre sakkarit türevleri, protein/peptidler ve yağlar olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Prebiyotik bileşenlerden sakkarit türevleri monosakkaritler, disakkaritler (laktoz, laktuloz, şeker alkolleri), polisakkaritler (fruktanlar, dirençli nişasta) veya oligosakkaritler gibi, moleküler büyüklüğe veya polimerizasyon derecesine (monosakkarit birimlerinin sayısı) göre sınıflandırılabilen karbonhidratlardır. Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) isimlendirmesine göre oligosakkaritler, 3-10 şeker ünitesi içeren sakkaritler olarak tanımlanmaktadır. En yaygın kullanılan prebiyotikler fruktooligosakkaritler (FOS), inülin, galaktooligosakkaritler (GOS) ve laktuloz gibi sindirilemeyen karbonhidratlar olup, prebiyotik özellik gösteren besin maddeleri Çizelge 2.4'te gösterilmektedir (Saad ve ark. 2013, Buriti ve ark. 2016, Yılmaz-Ersan ve ark. 2016).

Soya fasulyesi, ham yulaf, olgunlaşmamış buğday ve arpa, soğan, muz, kuşkonmaz, Kudüs enginarı, hindiba kökü ve yacon bitkisi bilinen geleneksel prebiyotik kaynaklardan bazılarıdır. Bununla birlikte, genellikle bu gıda kaynaklarındaki prebiyotiklerin seviyesi, bağırsak mikrobiyotasının bileşimi üzerinde herhangi bir anlamlı etki sergilemek için çok düşüktür. Dolayısıyla prebiyotikler ticari olarak meyve, sebze ve bitkilerden ekstraksiyonla elde edilmekte ve gıdaların bileşimine katılmaktadır (Bosnea ve ark. 2017).

Kolonda gerçekleşen fermantasyon ve bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler diyet lifi ve prebiyotikler için önemli bir etki mekanizmasıdır. Bağırsak mikrobiyotası, ince bağırsakta sindirilmeyen karbonhidratların fermantasyonu yoluyla enerji açığını karşılamaktadır. Ana substratlar arasında dirençli nişasta, nişasta olmayan polisakkaritler (selüloz, hemiselüloz, pektin ve zamk), sindirilemeyen oligosakkaritler ve şeker alkolleri bulunmaktadır. Kolonik bakteriler, bir dizi karbonhidrat hidrolize edici enzim kullanarak KZYA (asetat, propiyonat, bütirat), pürivat, laktat, süksinat, hidrojen, metan ve karbon dioksit gazı açığa çıkarmaktadır. Fermantasyonu uyaran, prebiyotik etki gösteren diyet bileşenleri, bakteri kütlelerinde ve sonuç olarak dışkı kütlelerinde bir artışa yol açmakta,

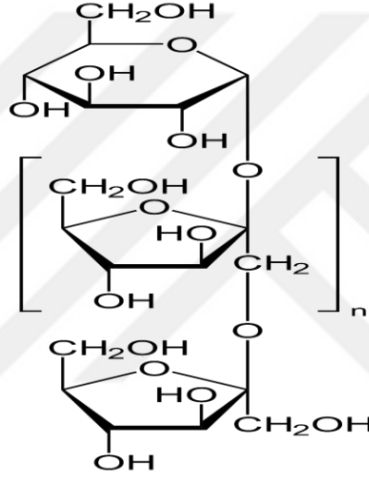
gastrointestinal geçiş süresini kısaltmaktadır. Fermente edilen her 100 g karbonhidrat için yaklaşık 30 g bakterinin üretildiği tahmin edilmektedir (Roberfroid 2007, Slavin 2013, Singh ve ark. 2018).

Çizelge 2.4. Gıdalarda kullanılan prebiyotik bileşenler

Prebiyotik	Kaynak
Fructooligosakkaritler (FOS)	Meyve ve sebzeler
Galaktooligosakkaritler (GOS)	İnsan sütü (laktoz)
İnülin	Hindiba kökü, <i>Agave tequilana</i>
Soya oligosakkaritleri (SOS)	Soya fasülyesi
İzomaltooligosakkaritler (IMO)	Maltoz, Sakkaroz
Gentiooligosakkaritler	Glikoz
Laktuloz	Süt ve süt ürünleri
Pektik oligosakkaritler	Pektin
Ksilooligosakkaritler (XOS)	Ksilan
Kitooligosakkaritler	Kitin
Glikooligosakkaritler	Maltoz, Sakkaroz
Levan	Bakteriyel fruktan
Dirençli nişasta	Tahıllar, sebzeler, baklagiller, tohumlar
Dekstrinler (malto-, siklo-, pro-)	Patetes ve mısır nişastası

Prebiyotik etki, gastrointestinal sistemde yer alan *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerinin miktarının ve oluşturdukları KZYA oranının artmasına paralel olarak temel bakteriyel mikrobiyotanın gelişmesi olarak ifade edilmektedir (Usta ve ark. 2015, Gupta 2016). Probiyotik mikroorganizmaların gelişimini uyararak prebiyotikler gastrointestinal fonksiyonları ve bağışıklık sistemini güçlendirmekte, kalsiyum ve magnezyum emilimini arttırmakta, kan glikoz ve plazma lipit seviyelerini düzenlemekte, kansere karşı koruyup kanser hücrelerin büyümesini engellemektedir. Prebiyotiklerin anaerobik bakteri fermantasyonunun başlıca metabolik ürünleri olan KZYA'lar lümen ve fekal pH'ı azaltarak patojenik organizmaların büyümesini inhibe etmektedir (Dwivedi 2016, Varzakas ve ark. 2018).

İnülin; bifidojenik bakteriler tarafından spesifik fermantasyonu açısından kapsamlı testlerden geçmiş, *in vitro* ve *in vivo* koşullarda prebiyotik etkisi kanıtlanmış olan bileşiklerden biridir. Fruktoz birimlerinden oluşan inülin; prebiyotik fonksiyona sahip, ticari açıdan büyük önem arz eden ve bitkilerde depo karbonhidratı olarak bulunan bir polimerdir. İnülinin bileşiminde β -(1-2) bağları yer almakta ve bu sayede gastrointestinal sistem enzimleri ile metabolize edilemeyen inülin ağız, mide, ince bağırsaklardan hidrolize olmadan geçmekte; kalın bağırsakta *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri gibi yararlı bakteriler tarafından fermantasyona uğramaktadır (Şekil 2.3) (Franck 2002, Abrams ve ark. 2005, Salazar ve ark. 2015, Özcan ve ark. 2018).



Şekil 2.3. İnülinin kimyasal yapısı

İnülin üst gastrointestinal kanalda sindirilmediği için 1,0-2,0 kcal/g gibi düşük bir kalorik değere sahiptir. Ayrıca serum glikozunda artışa neden olmamakta ve insülin salgısını uyarmaktadır. Vücutta kalsiyum başta olmak üzere mineral emilimini dolayısıyla kemik mineral yoğunluğunu arttırabileceği ve osteoporoz gelişimi riskini azaltabileceği ifade edilmektedir. Fermantasyon sonucu olumlu yönde değişen bağırsak florası ve oluşan metabolitler aracılığıyla inülinin konakçıya sağladığı diğer sağlık yararları Şekil 2.4'te belirtilmektedir (Franck 2002, Apolinário ve ark. 2014).



Şekil 2.4. İnülinin sağlık ve beslenme üzerine etkileri

Ticari inülin elde etmede yaygın olarak kullanılan kaynaklardan en önemlileri Compositae familyasına ait olan hindiba bitkisi (*Cichorium intybus*) ve Asteraceae familyasından, yer elması olarak da bilinen Kudüs enginarı (*Helianthus tuberosus*) dır. Endüstriyel üretimlerde tercih edilmese de diğer inülin kaynakları Çizelge 2.5'te belirtilmektedir (Franck 2002, Abed ve ark. 2016, Bhagia ve ark. 2018).

İnülinin polimerizasyon derecesi tipik olarak 2 ile 60 arasında değişmekte ve polisakkarit zincirinin büyüklüğü endüstriyel uygulamalarını yönlendirmektedir. Polimerizasyon derecesine göre çözünürlüğü, termal stabilitesi, tatlılık derecesi, prebiyotik aktivitesi ve su bağlama kapasitesi değişiklik göstermektedir. Yüksek polimerizasyon derecesine sahip inülinin suda eriyebilirliği ve viskozitesi fazladır. Bu nedenle uzun zincirli inülin

ilavesi ile dondurma ve diğer sütlü tatlılarda viskozite arttırılabilmekte, tekstür gelişimi sağlanmakta, düşük yağ içeriğine sahip krem peynir üretilebilmektedir (Lopes ve ark. 2015). Yüksek polimerizasyon dereceli inülin tekstür geliştirici ve yağ ikamesi olarak değerlendirilirken; düşük ve orta polimerizasyon derecesine sahip inülin üründe tekstürü iyileştirmenin yanı sıra şeker ikamesi olarak da kullanılabilir (Flamm ve ark. 2001). Besinsel olarak azaltılmış kalori değeri, diyet lifi ve prebiyotik etkileri içeren fonksiyonel özellikleri ve sağlığa yararlı etkileri ile bilinen inülin; endüstriyel olarak işlenmiş süt ürünleri ve diğer ürünlerde yağ oranını azaltmada, dokusal modifikasyon ve duysal özellikleri iyileştirmede giderek daha fazla kullanılmaktadır (Çizelge 2.6) (Karimi ve ark. 2015, Özcan ve ark. 2018).

Çizelge 2.5. Çeşitli inülin kaynakları

İnülin Kaynağı	Bitki	İnülin İçeriği (g/100g)
Yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	Kök	35
Stevia (<i>Stevia rebaudiana</i>)	Yaprak	18-23
Sarımsak (<i>Allium sativum</i>)	Soğan	14-23
Arpa (<i>Hordeum vulgare</i>)	Dane	18-20
Hindiba (<i>Cichorium intybus</i>)	Kök	11-20
Kudüs enginarı (<i>Helianthus tuberosus</i>)	Yumru	35,7-47,6
Kuşkonmaz (<i>Asparagus</i> sp.)	Kök	15
Çöl zambağı (<i>Agave</i> sp.)	Sap	12-15
Karahindiba (<i>Taraxacum officinale</i>)	Kök	12-15
Yıldız çiçeği (<i>Dahlia pinata</i> cav.)	Yumru	10-12
Suma (<i>Pfalia glomerate</i>)	Kök	11,45
Soğan (<i>Allium cepa</i> , <i>Allium</i> sp.)	Soğan	5-9
Dul avrat otu (<i>Arctium</i> sp.)	Kök	8,3-9,9

Yapılan çalışmalarda probiyotik kolonizasyonu veya metabolik etkinin iyileşmesi amacıyla yeni stratejiler geliştirilmiş, probiyotik ve prebiyotikler birlikte kullanılmaya başlanmıştır. Böylesi sinbiyotik yaklaşımın ülseratif kolitten, kolorektal kanserin önlenmesine kadar mikrobiyotada çok genel bir pozitif regülasyonun sağlanması ve yaşam kalitesinin arttırılmasında daha etkili olduğu gösterilmiştir (Fazilah ve ark. 2018).

Çizelge 2.6. İnülinin gıdalarda kullanımı

Gıda Uygulamaları	Fonksiyonel Etki	Kullanım Miktarı (%w/w)
Unlu gıdalar (ekmek, kek)	Prebiyotik, diyet lifi, nem bağlayıcı, şeker ikamesi	2–15
Kahvaltılık tahıllar	Prebiyotik, diyet lifi, tekstür geliştirici	2–25
Süt ürünleri	Yağ ve şeker ikamesi, tatlılığın güçlendirilmesi, tekstür geliştirici, köpük stabilizasyonu, duyuusal özellik, prebiyotik, diyet lifi	2–10
Et ürünleri	Yağ ikamesi, diyet lifi, tekstür geliştirici	2–10
Dondurulmuş tatlılar	Yağ ve şeker ikamesi, tekstür geliştirici, erime özelliği, prebiyotik, diyet lifi	2–10
Sürülebilir gıda formülasyonları	Tekstür geliştirici, sürülebilirlik ve emülsiyon stabilitesi, prebiyotik, diyet lifi	2–10
Dolgular	Yağ ikamesi, diyet lifi, tekstür geliştirici	2–30
Salata sosları	Yağ ikamesi, diyet lifi, tekstür geliştirici, duyuusal özellikler	2–10
Çikolata	Yağ ve şeker ikamesi, diyet lifi, tekstür geliştirici, ısıya dayanım (erime davranışı)	5–30
Meyve karışımları	Yağ ve şeker ikamesi, tatlılığın güçlendirilmesi, duyuusal özellikler, prebiyotik, diyet lifi	2–10
Diyet gıdalar ve beslenme takviyeleri	Yağ ve şeker ikamesi, tatlılığın güçlendirilmesi, diyet lifi, tekstür geliştirici, prebiyotik	2–15

Sinbiyotik terimi; probiyotik ve prebiyotiklerin kombinasyonunu ifade etmekte, sinbiyotik kullanımı probiyotik ve prebiyotiklerin tek başına göstereceğinden daha fazla olumlu etki ile sonuçlanmaktadır (Liu ve ark. 2004, Furrie ve ark. 2005, Homayouni ve ark. 2008, Yılmaz-Ersan ve ark. 2016, Fayed ve ark. 2018). Sinbiyotik ürün formülasyonları için yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmaların arasında *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri, *Saccharomyces boulardii* ve *Bacillus coagulans* bulunurken; kullanılan başlıca prebiyotikler ise fruktooligosakkarit (FOS), galaktooligosakkaritler (GOS), ksilooligosakkaritler (XOS) ve inülidir (Topping ve ark. 2003, Bertelsen ve ark. 2016, Firouzi ve Haghghatdoost 2018). Sinbiyotik formülasyonlar için yerine getirilmesi gereken en önemli koşul, seçilen prebiyotiklerin kullanılan probiyotik mikroorganizmanın büyümesini seçici olarak desteklemesidir (Buriti ve ark. 2016).

Probiyotik ve sinbiyotik süt ürünlerinin geliştirilmesinde kullanılan ilave bileşenlerin ve işlem adımlarının, üretim ve raf ömrü boyunca probiyotik mikroorganizmanın canlılıklarını kaybetmemesi veya ürünün duyu kalitesindeki düşüşe neden olmaması gerekmektedir. Süt bazlı gıdaların tüketici açısından probiyotik ve prebiyotik bileşenlerin uygulanması için güvenilir taşıyıcılar olarak değerlendirilmesi; probiyotik ve sinbiyotik süt ürünlerinin başarısı ve tüketiciler arasındaki sağlıklı ve beğenilen özellikleri ile açıklanabilmektedir. Sinbiyotik yoğurtlara ilişkin yapılmış birkaç çalışma Çizelge 2.7’de özetlenmiştir (Fazilah ve ark. 2018).

Çizelge 2.7. Sinbiyotik yoğurt üretimine dair bazı çalışmalar

Probiyotik	Prebiyotik	Fonksiyonel Özellik
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i>	Inülin, laktuloz, oligofruktoz	İnülin, yoğurt kalitesinin yanı sıra probiyotik canlılığı üzerinde belirgin pozitif etki göstermiştir.
<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i>	Okara unu, inülin, pastörize ve dondurulmuş mango posası, pastörize ve dondurulmuş guava posası	Sinbiyotik soya yoğurdu formülasyonu, günlük 10^8 - 10^9 kob/g probiyotik canlılık göstermiştir.
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>	Fruktooligosakkarit (FOS)	FOS ilavesi yüksek su tutma kapasitesi, iyi tat ve doku, probiyotik gelişimi; laktat, aroma bileşenleri ve ekzopolisakkarit üretiminde artış ile sonuçlanmıştır.
<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	Fruktooligosakkarit (FOS)	Üretilen soya yoğurdunun daha kısa fermantasyon süresi ve yüksek probiyotik canlılığı ile sonuçlanmıştır.
<i>Lactobacillus casei</i>	Taze, dondurulmuş ve kuru elma parçaları; kurutulmuş reçineler ve buğday taneleri	Test edilen meyveler ve tahıllar, depolama sırasında probiyotik bakterinin canlılığını önemli ölçüde arttırmıştır.
<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Bitkisel yağ emülsiyonu (Fabulles™), tutku meyvesi (Passiflora) kabuğu tozu	Yoğurt bileşimi fermantasyon süresini etkilememiş ancak yoğurt tekstürünü iyileştirmiştir.

2.2. Stevia: Özellikleri ve Süt Ürünlerinde Kullanımı

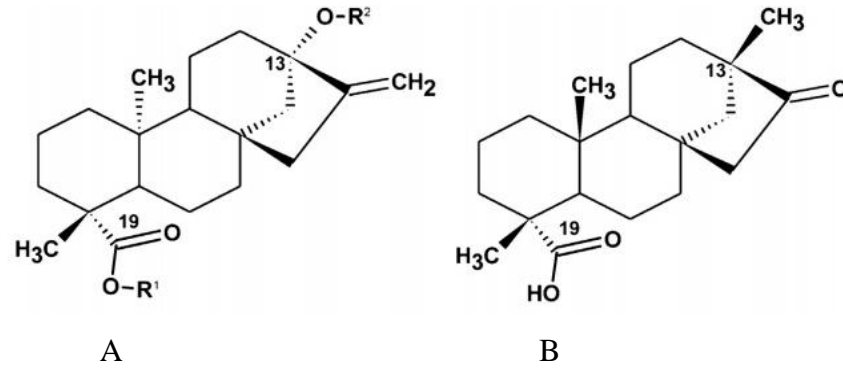
Stevia rebaudiana Bertoni, Asteraceae (Compositae) familyasından çok yıllık bir bitkidir (Şekil 2.5). Anavatanı Paraguay olan bu tür Kanada, Amerika Birleşik Devletleri, Çin, Japonya, Avustralya, Brezilya, Singapur, Güney Kore, Meksika, Endonezya, Hindistan ve Tayland gibi pek çok ülkeye yayılım göstermekte ve yetiştirilmektedir (Kinghorn ve ark. 2003, Ahmed ve ark. 2011, Kovačević ve ark. 2018, Rizwan ve ark. 2018). Bu bitki Güney Amerika'ya özgü olduğu için büyümesi ve gelişimi için en uygun koşullar ortalama 24°C sıcaklık ve yarı nemli subtropikal iklimdir. Stevia; yaygın olarak bataklıkların kenarlarında verimsiz, asitli topraklarda yetişmekte ancak elverişsiz koşullara yüksek adaptasyon yeteneği ile bilinmektedir (Shahverdi ve ark. 2017, Libik-Konieczny ve ark. 2018).



Şekil 2.5. *Stevia rebaudiana* Bertoni

1887 yılında Güney Amerikalı doğa bilimci Moisés Santiago Bertoni tarafından tanımlanan stevia; tatlı yaprağı, şekerleme yaprağı, şeker yaprağı veya bal yaprağı olarak adlandırılmakta, Güney Amerika'da yaşayan Guani yerlilerince yüzyıllardır doğal tatlandırıcı ve tıbbi ilaç olarak kullanılmaktadır (Lemus-Mondaca ve ark. 2012, Choudhary ve ark. 2014). Stevia cinsine ait yaklaşık 230 tür bulunmasına rağmen yalnızca *Stevia rebaudiana* Bertoni steviol glikozitlerin varlığı nedeniyle tatlandırıcı özelliğe sahip bulunmaktadır (Zhang ve ark. 2017, Kovačević ve ark. 2018, Salazar ve ark. 2018).

Stevia yaprakları lif, protein, lipid, uçucu yağlar, oligosakkaritler, serbest şekerler, askorbik asit, kalsiyum, magnezyum, fosfor ve demir bakımından oldukça zengin olmakla birlikte; flavonoidler, karotenoidler, alkaloidler, tanenler, klorofiller, fenolik asitler, östroinulin, nilasin, gibberelik asit, rebaudi oksitler, indol-3-asetonitril, apigenin, kersetin, izokerkitrin, miosen, lötrolin, kaempferol, stigmasterol, ksantofil, umbeliferon, kafeik asit, klorojenik asit ve dikaffeoilkinik asit içermektedir (Lemus-Mondaca ve ark. 2012, Aminha ve ark. 2014, Salazar ve ark. 2018). Bugüne kadar *S. rebaudiana* Bertoni yapraklarında yaklaşık 40 adet steviol glikozit tanımlanmıştır ancak yapraklarda yoğun olarak biriken steviol glikozitler; steviosid, steviolbiosid, rebaudiosid A, B, C, D, E, F, M ve dulcozid olarak tanımlanan sekonder metabolitlerdir. Bitkinin türüne, büyüme koşullarına ve agronomik tekniklere bağlı olarak değişmekle birlikte stevia yaprakları, %9-13 steviosid, %6-8 rebaudiosid A, %1-2 rebaudiosid C, %0,4-0,7 dulcosid; eser seviyelerde steviolbiosid, rebaudiosid B, D, E, F ve M içermektedir. Steviol glikozitlerin kimyasal yapı ve formülleri Şekil 2.6 ve Çizelge 2.8’de ifade edilmektedir (Geuns ve ark. 2007, Gardana ve Simonetti 2018, Lemus-Mondaca ve ark. 2018, Petit ve ark. 2018, Téllez ve ark. 2018).



Şekil 2.6. (A) Steviol omurga ($R_1 = R_2 = H$) ve (B) izosteviol

Steviol glikozitlerden steviosid sakkarozdan 250-300 kat, kurutulmuş stevia yaprakları ise sakkarozdan yaklaşık 10-15 kat daha tatlıdır (Çizelge 2.9) (Puri ve ark. 2011). Stevia yaprağının içerdiği diterpenoid steviol glikozitlerin en baskın olanları steviosid ve rebaudiosid A'nın tat özellikleri farklılık göstermektedir (Kaushik ve ark. 2010, Shahverdi ve ark. 2017, Zhang ve ark. 2017, Kovačević ve ark. 2018). Genel olarak yüksek çözünürlük gösteren rebaudiozid A tipik tatlı, steviosid ise tatlılığın yanında hafif

acı tat izlenimi sergilemektedir. Tattaki farklılıklar; steviosid molekülünün aksine rebaudiosid A'da fazla miktarda bulunan polar glikoz gruplarının sakkaroz tadına daha fazla benzerlik kazandırmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, araştırma çalışmaları stevia ekstraktının rebaudiosid A ile zenginleştirilmesine ya da rebaudiosid A'ya glikoz kalıntılarının enzimatik trans-glikosilasyon ile eklenmesine odaklanmaktadır (Carakostas ve ark. 2008, Lemus-Mondaca ve ark. 2018, Poothong ve ark. 2018).

Çizelge 2.8. Steviol glikozitlerin kimyasal yapı ve özellikleri

Steviol Glikozitler	Omurga Figüründeki R Grupları		Formül	Molekül Ağırlığı (g/mol)
	R ₁	R ₂		
Rebaudiosid A	β -glk-	(β -glk) ₂ - β -glk-	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	965,42
Rebaudiosid B	H	(β -glk) ₂ - β -glk-	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈	803,37
Rebaudiosid C	β -glk-	(β -glk, α -rnmn)- β -glk-	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₂	949,43
Rebaudiosid D	β -glk- β -glk-	(β -glk) ₂ - β -glk-	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₈	1127,48
Rebaudiosid E	β -glk- β -glk-	β -glk- β -glk-	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	965,42
Rebaudiosid F	β -glk-	(β -glk, β -ksl)- β -glk-	C ₄₃ H ₆₈ O ₂₂	935,41
Steviosid	β -glk-	β -glk- β -glk-	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈	803,37
Steviolbiosid	H	β -glk- β -glk-	C ₃₂ H ₅₀ O ₁₃	641,32
Rubusosid	β -glk-	β -glk-	C ₃₂ H ₅₀ O ₁₃	641,31
Dulcosid A	β -glk-	α -rha- β -glk-	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₇	787,38

*glk=glikoz, rnmn=ramnoz, ksl=ksiloz

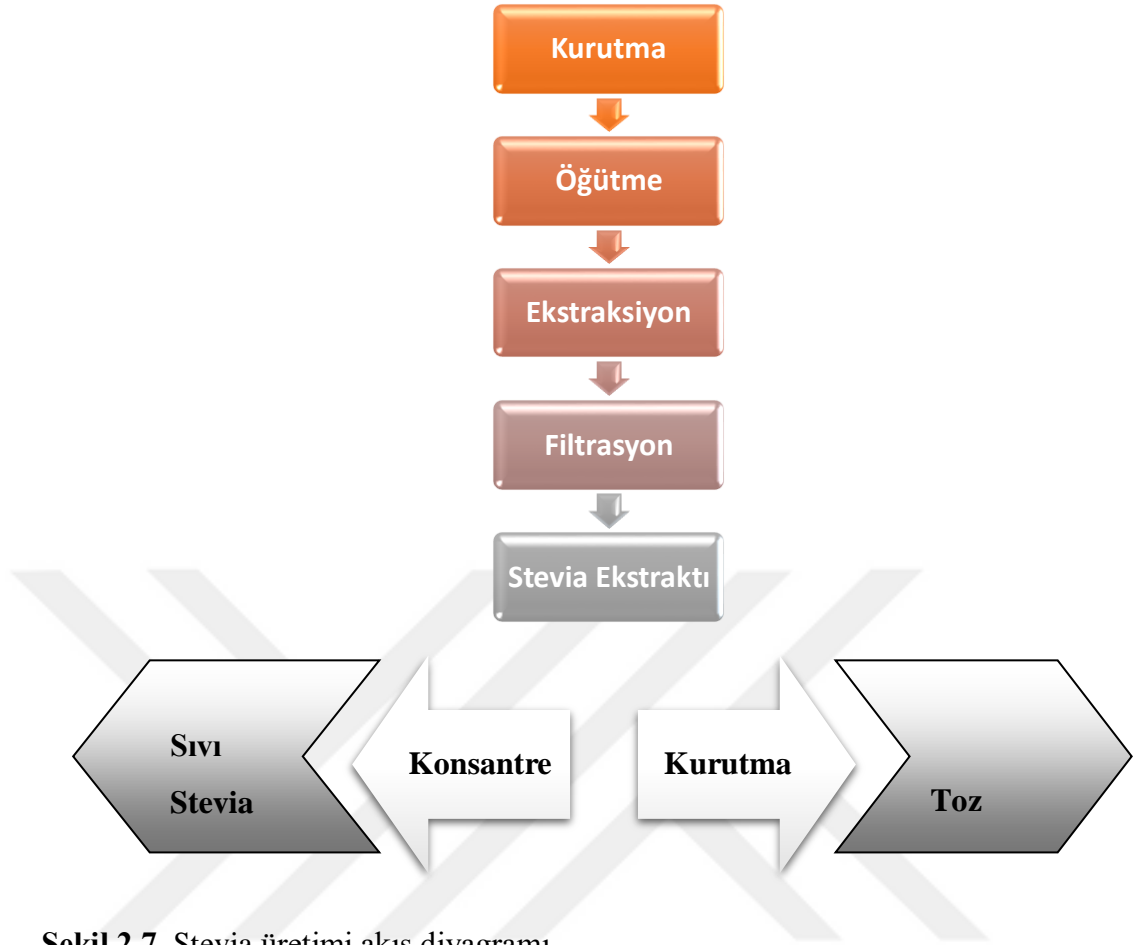
Önemli termal ve pH stabiliteyi nedeniyle, steviol glikozitleri çeşitli yiyecek ve içeceklerde kullanmak mümkün olmaktadır. Steviol glikozitler 100°C'den yüksek sıcaklıklarda bozunmakta ve asidik koşullar hidroliz sürecini arttırmaktadır. Yapılan çalışmalar, 80°C'ye kadar termal muamele altında, 2-10 pH aralığındaki sulu çözeltide steviosidin kararlı olduğunu, güçlü asidik koşulların (pH=1) steviosid stabilitesini olumsuz etkilediğini göstermektedir (Kovačević ve ark. 2018). Bu nedenle, AB (Avrupa Birliği)'de stevia özü ile tatlandırılan unlu mamüllere izin verilmemektedir. Öte yandan, yoğun tatlılığı ve düşük kalorili özelliği ile bilinen steviol glikozitler JECFA (Gıda Katkı

Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzman Komitesi) ve EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) tarafından kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiş ve onaylanmış, steviadan saflaştırılan Rebaudiosid A, GRAS (genel olarak güvenli) olarak kabul edilmiştir. 2008 yılında Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), 2011 yılında AB tarafından gıda katkı maddeleri olarak onaylanan ticari stevia ekstraktlarında izin verilen 11 steviol glikozit; steviosid (SV), rebaudiosid A (RA), rebaudiosid B, C, D, E, F, M (sırasıyla RB, RC, RD, RE, RF ve RM), dulcosid A (DuA), steviolbiosid (Sb) ve rubusosid (Ru) olarak belirlenmiştir (Ramos-Tovar ve Muriel 2017, Zhang ve ark. 2017, Lemus-Mondaca ve ark. 2018).

Çizelge 2.9. Stevia yapraklarından izole edilen diterpen glikozitlerin göreceli tatlılık derecesi

Diterpen Glikozit	Göreceli Tatlılık Derecesi
Steviosid	250-300
Rebaudiosid A	350-450
Rebaudiosid B	300-350
Rebaudiosid C	50-120
Rebaudiosid D	200-300
Rebaudiosid E	250-300
Rebaudiosid F	200
Steviolbiosid	100-125
Dulcosid A	50-120

Stevia yaprakları içerdiği biyoaktif bileşiklerden dolayı farmasötik ile kozmetik ürünlerde ve gıda sanayinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Stevia bütün bitki olarak veya ezilmiş yapraklar halinde kullanılabilirken, en çok tercih edileni sıvı ya da toz formundaki stevia ekstraktlarıdır. Stevia üretimi; stevia yapraklarının kurutulup öğütülmesini takiben paketlenmesi ile elde edilen toz stevia, konsantre stevia ekstraktı ve toz stevia ekstraktı olmak üzere üç şekilde gerçekleşmektedir. Genel olarak üretim aşamaları; kurutma, öğütme, ekstraksiyon, filtrasyon ya da saflaştırma işlemi ile renk maddelerinin eliminasyonu, sıvı ya da toz ürün isteğine bağlı olarak konsantre etme veya kurutma şeklinde olmaktadır (Şekil 2.7) (İnanç ve Çınar 2009, Kovačević ve ark. 2018).

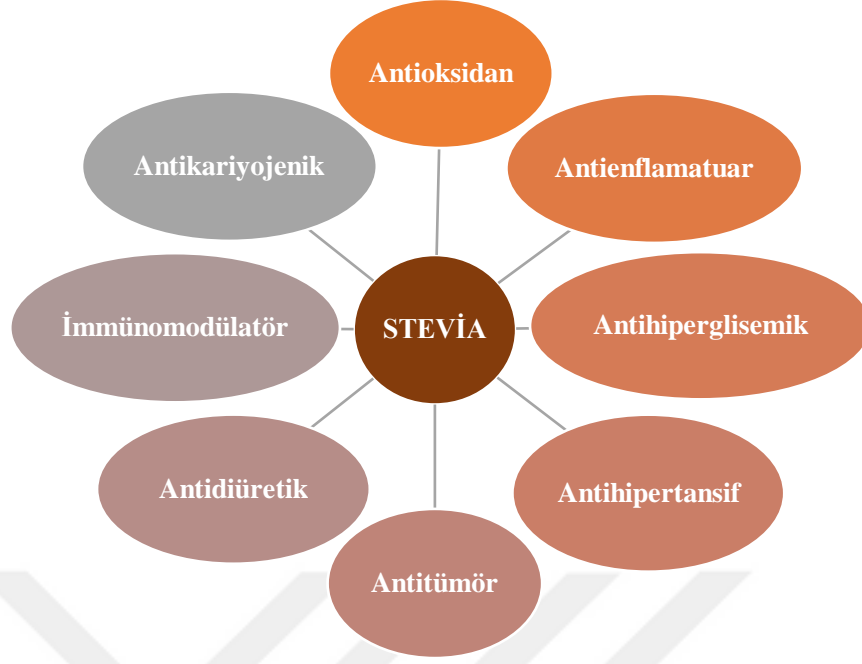


Şekil 2.7. Stevia üretimi akış diyagramı

Ticari ekstrakt üretiminin ilk aşaması kuruma ve ileri işleme için yüksek bir steviol glikozit içeriğine sahip yaprakların dehidrasyonunu içermektedir (%10-13 nem). Ayrıca kurutma işlemi mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmek ve bitkilerin organoleptik özelliklerini değiştirebilen belirli biyokimyasal değişiklikleri önlemek için de kullanılmaktadır. Doğal kurutmanın olumsuz etkilerini en aza indirmek için stevia yaprakları fırında sıcak havayla, vakumla veya dondurarak kurutma gibi yöntemler ile kurutulmaktadır (Lemus-Mondaca ve ark. 2018). Ekstraksiyon işlemi için kolon ve kazan tipi ekstraktörler ve çözügen olarak su ve alkol kullanılmaktadır. Stevia ekstraktlarının elde edilmesi için maserasyon ve ısıya dayalı klasik ekstraksiyon tekniklerinin kullanımı yüksek organik çözücü tüketimi, uzun işlem süresi ve düşük verim ile sonuçlanmıştır. Bu nedenle mikrodalga destekli ekstraksiyon, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, süperkritik akışkan ekstraksiyonu, ultrason destekli ekstraksiyon, soğuk plazma destekli ekstraksiyon, yüksek basınç destekli ekstraksiyon, darbeli elektrik alan ekstraksiyonu, enzim destekli

ekstraksiyon, basınçlı çözügen ekstraksiyonu gibi yeni teknikler kullanılmaya başlanmıştır (Kovačević ve ark. 2018, Pacifico ve ark. 2019). 200-1300 kPa basınç altında ve 30-85°C'de gerçekleştirilen filtrasyon işleminde nano ve ultrafiltrasyon teknikleri kullanılabilir. Saflaştırma işlemi elektrolitik teknikler ya da çöktürme ajanları ve iyon değiştirme reçineleri ile gerçekleştirilmektedir. Son aşamada istenen ürün formuna göre konsantre stevia üretimine ya da püskürtücü kurutucularda toz stevia üretimine geçilmektedir. Stevia ekstraktı üretiminin temel aşamaları Şekil 2.7'de gösterilmektedir (İnanç ve Çınar 2009, Téllez ve ark. 2018).

Stevia rebaudiana Bertoni; alkaloidler, flavanoidler, tanenler ve fenolik bileşikler dahil olmak üzere biyolojik aktiviteye sahip olan pek çok fitokimyasal içermekte ve çoğunun potansiyel antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Bu biyolojik olarak aktif maddelerin çoğu kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik hastalıkların önlenmesinde etkinlik gösterebilmektedir (Barroso ve ark. 2018, Libik-Konieczny ve ark. 2018). Stevia'nın antioksidan, antibakteriyel, antikanser, antifungal ve antiviral aktivitelerin yanı sıra enflamasyonla ilişkili hücrelerin (mast hücreleri, makrofajlar, lenfositler ve nötrofiller) aktivitelerini düzenleme yeteneği olduğu da düşünülmektedir. Ayrıca stevia vazodilatör, kardiyotonik ve anestetik etkili olduğu için terapötik faydalar sunabilmektedir (Ramos-Tovar ve Muriel 2017, Lemus-Mondaca ve ark. 2018, Rizwan ve ark. 2018). Stevia'nın diyabet, obezite, hipertansiyon, diyare tedavisi ve çürüklerin önlenmesinde etkili olduğu bunun yanı sıra antihiperglisemik, antihipertansif, antitümör aktivitesi ile diüretik ve immünomodülatör etkisi kanıtlanmıştır (Şekil 2.8). Yapılan çalışmalar steviada bulunan bileşiklerin teratojenik, mutajenik veya kanserojen olmadığını ve akut ya da subakut toksisiteye de neden olmadığını göstermektedir (Madan ve ark. 2010, Chou ve ark. 2013, Molina-Calle ve ark. 2017, Ramos-Tovar ve Muriel 2017, Zhang ve ark. 2017, Gardana ve Simonetti 2018, Salazar ve ark. 2018). Bu özellikleri sebebiyle stevia farmakolojide; yenilikçi gıdaların, hazır yemeklerin ve katkı maddelerinin formülasyonunda güvenle kullanılabilir (Pina-Pérez ve ark. 2018).



Şekil 2.8. Stevianın insan sağlığı üzerine başlıca olumlu etkileri

Günümüz yaşam koşulları ve yoğun çalışma temposunun bir sonucu olarak hazır gıdalara olan eğilim, dolayısıyla da yüksek oranda şeker içeren gıdaların tüketimi artış göstermektedir. Özellikle rafine formdaki şekerin fazla miktarda tüketiminin başta obezite, diyabet ve metabolik sendrom olmak üzere birçok hastalığın ortaya çıkması ile ilişkili olduğunun kanıtlanması üzerine sağlık odaklı fonksiyonel ürünlere talep artmaktadır. Bu durum piyasadaki arz-talep dengesini etkilemekte, şeker oranı azaltılmış gıdaların üretimini zorunlu kılmaktadır (Swithers 2013, Sylvestsky ve Rother 2016, Ozcan ve ark. 2017, Kovačević ve ark. 2018, Téllez ve ark. 2018). Biyoteknolojik çalışmalar sonucunda aspartam, asesülfam-k, siklamat ve sakkarin gibi sentetik, besleyici nitelikte olmayan tatlandırıcılar geliştirilmiştir. Ancak gıdaların üretiminde kullanılan bazı tatlandırıcıların toksikolojik özelliklerinin tam olarak belirlenememesi, hayvan deneylerinde ağırlık artışına, mesane kanserine, beyin tümörlerine ve daha birçok sağlık sorununa sebep olması taumatin, neohesperidin, monelin ve steviosid gibi doğal tatlandırıcılara ihtiyaç doğurmuştur (Weihrauch ve Diehl-Ann 2004, Gupta ve ark. 2013). Şekere alternatif olarak kullanılabilen tatlandırıcılar kaynaklarına göre Çizelge 2.10'da gösterilmektedir (Priya ve ark. 2011, Özdemir ve ark. 2014).

Çizelge 2.10. Tatlandırıcıların sınıflandırılması

TATLANDIRICILAR	Besleyici Nitelikte (Hacim Verici)	Kalorili	Sakkaroz Bal Melas			
			Nişasta Bazlı Tatlandırıcılar		Glikoz Fruktoz	
		Düşük kalorili	Tagatoz			
			Şeker Alkolleri	Monosakkaritler		Eritritol Sorbitol Mannitol Ksilitol
				Disakkaritler		İsomalt Maltitol Laktitol
	Hidrojenize Nişasta Hidrolizatları					
	Besleyici Olmayan Nitelikte (Yüksek Yoğunluklu)	Doğal	Steviozid Glisirizin Taumatın Monelin			
		Yarı Sentetik	Neohesperidin dihidrokalkon			
		Sentetik	Asesülfam-K Neotam Aspartam Sakkarin Siklamat Sukraloz Alitam			

Tatlandırıcılar enerjisi azaltılmış gıda üretiminde, şeker ilavesiz gıdalar ile diyet ürünlerin raf ömrünü uzatmak amacıyla ve şeker ikamesi olarak kullanılmaktadır. Tatlandırıcıların formülasyona eklendiği ürün grupları; meyve suyu ve benzeri ürünler, alkolsüz içecekler, reçel ve marmelatlar, tatlılar, şekerleme ve sakızlar, unlu ürünler, dondurma ve diğer süt ürünleridir. Son yıllarda diş macunları ile ağız sağlığı ve bakımı ürünlerinde de tatlandırıcılar yaygın olarak kullanılmaktadır (Edwards ve ark. 2016). Türkiye’de gıdalarda kullanımına izin verilen tatlandırıcılar ve sakarozla göre tatlılık dereceleri Çizelge 2.11’de ifade edilmektedir (Anonim 2006, Gültekin 2017).

Çizelge 2.11. Türkiye’de gıdalarda kullanımına izin verilen tatlandırıcılar

E Kodu	Tatlandırıcı	Tatlılık Derecesi
E 420	Sorbitol	0,6
E 421	Mannitol	0,4
E 965	Maltitol	0,9
E 953	İzomalt	0,45-0,65
E 966	Laktitol	0,4
E 967	Ksilitol	1
E 950	Asesulfam K	200
E 951	Aspartam	180
E 952	Siklamat	30
E954	Sakkarin	300
E957	Taumatın	2000-3000
E959	Neohesperidin DC	1800

Süt ürünlerinde şeker, yapısal ve duyuşal karakteristikler üzerinde önemli bir bileşen olduğu için bu ürünlerin kalite ve karakteristik özellikleri korunurken, şeker oranını azaltarak tatlandırıcılarla yeniden formülasyon gıda endüstrisi için önemli bir zorluktur. Stevia diğer tatlandırıcılarla karşılaştırıldığında tatlı lezzetin yanı sıra yüksek besin değeri ile endüstriyel uygulamalar için uygun olabilecek duyuşal ve fonksiyonel özelliklere sahiptir. Bu kapsamda *Stevia rebaudiana* Bertoni bitkisinden elde edilen stevia çeşitli gıdaların üretimi sırasında tatlandırıcı olarak kullanılabilcek doğal bir şeker ikamesi olarak değerlendirilmektedir (Sativa ve ark. 2004, Gardana ve Simonetti 2018, Kovačević ve ark. 2018).

Alizadeh ve ark. (2014) tarafından düşük glisemik indekse (GI) sahip, düşük kalorili dondurma formüle etmek ve geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada farklı oranlarda sakkaroz ve stevia ile bunların karışımları kullanılmıştır. Sakkarozun stevia ile değıştirilmesi, doza bağlı olarak daha yüksek overrun ve erime hızı ile daha düşük viskozite, brix ve kalori değeri ile sonuçlanmıştır. Sakkarozun stevia ile ikame edilmesinin, düşük kalori ve glisemik indekse sahip dondurma üretmek için bir alternatif olabileceği, ayrıca iki tatlandırıcınının karışım halinde kullanılması durumunda duyuşal beğenin gelişirebileceği belirlenmiştir.

Menopoz öncesi ve sonrası kadınlar tarafından sakkaroz ve stevia ile tatlandırılmış çikolatalı sütlerin tercihini değerlendirmek ve karşılaştırmak amacıyla yapılan çalışmada kadın panelistler, yaşa göre premenopozal (18-47 yaş arası) ve menopoz sonrası (48 yaş üzeri) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Stevia, stevia ve NutraFlora® (FOS); sakkaroz ve stevia; sakkaroz, stevia, NutraFlora® ve sakkaroz ilave edilen sade ve çikolatalı sütler bir hafta boyunca panelistler tarafından tüketilmiştir. Menopoz öncesi kadınlar stevia ve NutraFlora® içeren çikolatalı sütü tercih ederken, menopoz sonrası kadınlar NutraFlora® içermeyen stevia sütü tercih etmiştir. Her iki grubun da kemik sağlığı ve kalori alımı bakımından endişeleri göz önüne alındığında stevia ile şekerlendirilen sütün kalori artışı olmadan kalsiyum kaynağı olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır (Verruma-Bernardi ve ark. 2014).

Çeşitli tatlandırıcıların probiyotik yoğurdun duyuşal özellikleri üzerindeki etkisinin değerlendirildiğı çalışmada, *Lactobacillus rhamnosus* GR-1'in gelişmesi ve canlılığı, altı probiyotik yoğurt örneğinde (%0,12 stevia, %0,12 stevia-inülin-krom, %1,0 sukraloz, %5,0 sakkaroz, %6,0 ksilitol ve kontrol örneğı) depolamanın 1., 14. ve 28. günlerinde ölçülmüştür. *Lactobacillus rhamnosus* GR-1'in canlı hücre sayısı; stevia, stevia-inülin-krom, sukraloz ve sakkarozun probiyotik yoğurda başarıyla dahil edilebileceğini göstermiştir. Lezzet, görünüm, tatlılık, doku ve genel kalite olmak üzere beş duyuşal özellik açısından ise en yüksek puanı yalnız stevia içeren örnek almıştır (Weber ve Hekmat 2013).

Rad ve ark. (2012), diyetetik çikolatalı sütün fiziksel özelliklerini değerlendirmek ve geliştirmek amacıyla yaptıkları çalışmada sakkarozun %50 ve %100 oranında ikamesi amacıyla stevia kullanmış; %0, %2, %4 ile %6 oranında inülin ilave etmişlerdir. %50 stevia ve %6 inülin içeren örnek, kontrol ile benzer şekilde düşük oranda çökelme ve yüksek viskozite oranına sahip bulunmuştur. Ürünün fiziksel özelliklerini geliştirmek için stevia ile tatlandırılmış çikolatalı süte inülin gibi bir kıvam arttırıcı bileşenin de ilave edilmesi gerektiğı de belirtilmiştir.

Lisak ve ark. (2011), çilek aromalı yoğurdun tatlılığındaki farklılıkları sakkaroz, stevia ve eşit miktarda sakkaroz ile stevia kombinasyonunu üç farklı konsantrasyonda (%3,

%4,5 ve %6) kullanarak incelemişlerdir. Panelistler tarafından en yüksek tatlılık derecesi sakkaroz ile üretilen yoğurda, en düşük tatlılık seviyesi ise stevia ile üretilen yoğurda ait bulunmuştur. Çilekli yoğurt için herhangi bir tatlandırıcı kombinasyonun panel katılımcıları tarafından önerilen seviyesi 4,5 g/100 g olarak belirlenmiştir.

Kırmacı ve ark. (2014), probiyotik dondurmaların bazı kalite özellikleri üzerine prebiyotik lif içeren stevia ilavesinin etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada şeker yerine farklı oranlarda (%0, %25, %50, %75 ve %100) prebiyotik lif içeren stevia kullanmışlardır. Üretilen dondurmaların duyu özelliklerinin olumsuz etkilenmediği, fiziksel özelliklerinin iyileştiği, %50'ye kadar stevia ilavesinin probiyotik mikroorganizma sayısına negatif etki etmediği ancak, artan stevia oranına bağlı olarak kuru madde ve viskozite değerlerinde azalma olduğu saptanmıştır. Bu bulgular doğrultusunda dondurma üretiminde şeker ikamesi olarak %50'ye kadar stevia kullanımının mümkün olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Probiyotik bakteri *L. casei*'nin glikoz, inülin ve stevia (%0,25 ve %0,50) gibi farklı substratlar üzerinde canlılığının araştırıldığı çalışmada *L. casei*, ürün ve *in vitro* besiyeri ortamında geliştirilmiştir. Stevianın fermantasyon sırasında besiyeri ve fermente sütte *L. casei* gelişimini teşvik ettiği saptanmıştır. Fermente süt ürünlerinde şeker yerine, kalori değeri olmayan stevianın potansiyel prebiyotik olarak ilave edilebileceği tespit edilmiştir (Ozcan ve ark. 2017).

Stevia ilavesinin *Kulfi* (geleneksel Hint dondurması)'nin kalite özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada; şekerin %50, %60 ve %70'inin sırasıyla %0,05, %0,06 ve %0,07 oranında rafine edilmiş stevia ekstraktı ile değiştirildiği diyetetik *Kulfi* üretilmiştir. Yüksek oranda şeker, stevia ile değiştirildiğinde özgül ağırlık, erime hızı, karbonhidrat yüzdesi ve toplam kalori miktarında önemli ölçüde azalma olmuş; donma noktası, sertlik, yağ, protein, kül ve nem oranında ise belirgin bir artış meydana gelmiştir. Şeker miktarının yarısının stevia ile değiştirilmesiyle hazırlanan *Kulfi*, duyu özellikler açısından kontrol örneği ile benzerlik gösterirken; %50'yi aşan miktarlarda şekerin stevia ile ikamesi acılık, renk bozukluğu ve buzlu dokuya sebep olmuştur (Giri ve ark. 2014).

Dondurmaların fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerine stevia ilavesinin etkisinin araştırıldığı çalışmada tatlandırıcı olarak sakkaroz ve stevia (sakkaroz, kakao + sakkaroz, stevia ve kakao + stevia) kullanılarak dört farklı dondurma üretilmiştir. Panelistler tarafından tercih edilen kakao ve stevia içeren örnekler en yüksek viskozite ve overrun oranı ile en uzun ilk damlama süresine sahip bulunmuştur (Ozdemir ve ark. 2015).

Reis ve ark. (2011), farklı tatlandırıcılar ve bunların kombinasyonları (aspartam, asesulfame-K, siklamat, sakkarin, stevia ve sukraloz) ile üretilen çilek aromalı yoğurtların tatlılık derecesini incelemişlerdir. Çalışmada kullanılacak tatlandırıcı miktarları, duyuşsal olarak %11,5 oranında sakkaroz ile tatlandırılmış yoğurda eşdeğer tatlılıkta olacak şekilde belirlenmiş, siklamat/sakarin(2:1)/stevia(1,8:1) için bu oran %0,043 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar çilek aromalı yoğurtta özellikle asesülfam-K ve stevianın farklı tatlandırıcı kombinasyonlarının kullanılmasını desteklemiştir.

Guggisberg ve ark. (2011) tarafından; stevia, stevia-Actilight™ (FOS) veya Palatinose™ (İzomaltuloz) kombinasyonları ile şeker ikamesinin yoğurdun reolojik ve duyuşsal özellikleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada %8 oranında sakkaroz ikamesi olarak stevia ile %2-6 FOS veya %8 izomaltuloz kullanılmıştır. Tatlandırıcı ilavesinin, yoğurt fermantasyonu veya pH gelişimi üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı ve konsistansi arttırdığı belirlenmiştir. Stevia ile birlikte %6 Actilight içeren örnek, %8 sakkaroz ile hazırlanan çeşit ile benzer profile sahip bulunmuştur.

Stevia ile tatlandırılmış çikolatalı sütün çocuklar tarafından kabul edilebilirliğinin araştırıldığı çalışmada ürünü tatlandırmak amacıyla Enliten® (stevia), sakkaroz, Nutraflora® (FOS) ve kombinasyonları kullanılmıştır. Şeker içermeyen ve stevia içeren çikolatalı süt düşük puanlar alırken, stevia ve sakkaroz içeren süt daha çok beğenilmiş ve çocuklar tarafından tercih edilmiştir (Verruma-Bernardi ve ark. 2015).

Narayanan ve ark. (2014), vanilyalı yoğurtta stevianın uygun kombinasyon ve konsantrasyonunu saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada sakkaroz, aspartam, eritritol + steviol glikozid, maltodekstrin + steviol glikozid ve stevia ekstraktı kullanmışlardır. Maltodekstrin ve %95 steviol glikozid içeren stevianın sadece %0,7'sinin gerekli olduğu,

oysa eritritol içeren steviol glikozidler ya da stevia soğuk su ekstraktı için daha yüksek seviyeler (%4,0-5,5) gerektiği tespit edilmiştir. Vanilyalı yoğurta stevia tatlandırıcılarının orta düzeyde (%0,7-%5,5) kullanımı uygun bulunmuştur.

Pourahmad ve Khorramzadeh (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, soya sütü tozu ve üç farklı tatlandırıcı (stevia, eritritol, izomalt) kombinasyonunu içeren toz içeceğin farklı formülasyonları değerlendirilmiştir. Örnekler, gerekli tatlılığın %80 ve %90'ı stevia ve kalanı eritritol ve izomalt (100:0, 75:25, 50:50, 25:75 0:100) karışımından gelecek şekilde formüle edilmiştir. Stevia ilaveli tüm örnekler fizikokimyasal ve organoleptik kalite özellikleri açısından kabul edilebilir sonuçlar verirken, tatlılığın %80 oranında steviadan, %20 oranında eritritol ile izomalt (75:25) karışımından elde edildiği örnek için en iyi sonucu vermiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan mikroorganizmalar

In vitro probiyotik bakteri kültürleri

Probiyotik bakteri gelişiminin *in vitro* şartlarda incelenmesinde bakteri suşu olarak seçilen ve kullanılan *Lactobacillus acidophilus* (No DSM 20079) ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (No DSM 10140) türleri DSMZ (Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures-Almanya) firmasının kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Probiyotik yoğurt kültürleri

Stevia katkılı yoğurt üretiminde kullanılan *Lactobacillus acidophilus* (No 706152) ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (No 704822) kültürleri Chr-Hansen (İstanbul) firmasından temin edilmiştir.

3.1.2. Yağsız süt tozu

Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt üretiminde rekonstitüe sütün elde edilmesi amacıyla kullanılan yağsız süt tozu Tat Gıda A.Ş. Süt Endüstrisi Kurumu İşletmesi (SEK-Mustafakemalpaşa, Bursa)'nden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan yağsız süt tozunun firma tarafından belirtilen bileşimi Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Yağsız süt tozunun bileşimi

Bileşenler (%)	Miktar
Nem	5,00 (max)
Yağ	0-0,50 (max)
Protein	23,50
Toplam kuru madde	95,00

3.1.3. Stevia

Çalışma kapsamında potansiyel prebiyotik etkisi nedeniyle probiyotik bakterilerin gelişmesi için substrat ve şeker ikamesi olarak kullanılan stevia, Ekin Kimya (İstanbul) aracılığıyla PCSB (PureCircle Sdn Bhd, Malezya) firmasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan stevianın firma tarafından belirtilen özellikleri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Stevia ürün özellikleri

Parametre	Metod	Özellik
Görünüm	Duyusal değerlendirme	Beyaz-çok beyaz, toz
Toplam steviol glikozid	JECFA, 2010	≥95,0
% Rebaudioside A	-	≥50,0
Kurutma kaybı	JECFA, Vol.4	≤6,0
Çözünürlük	-	Serbestçe çözünür
pH (suda %1)	-	4,5-7,0
Etanol kalıntısı	PCSB-LAB-078	Tespit edilemedi
Metanol kalıntısı	-	Tespit edilemedi
Kül miktarı (%)	JECFA, Vol.4	<1,0
Kurşun (Pb, ppm)	AOAC 99.14	<1,0
Arsenik (As, ppm)	-	<1,0
Kadmiyum (Cd, ppm)	-	<1,0
Civa (Hg, ppm)	-	<1,0
Toplam aerobik, mezofilik mikroorganizma sayısı (kob/g)	FDA, Bölüm 3	<1000
Maya ve küf (kob/g)	FDA, Bölüm 18	<200
Toplam koliform (ems/g)	FDA, Bölüm 4	Tespit edilemedi
<i>E.coli</i> (ems/g)	-	Tespit edilemedi
<i>Salmonella</i> sp. (25g)	FDA, Bölüm 5	Negatif

3.1.4. İnülin

Çalışma kapsamında potansiyel prebiyotik etkisi araştırılan steviaya ek olarak kullanılan ve bifidojenik faktör olan inülin (Orafti-HSI), Beneo-Orafti (Tienen, Belçika) firmasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan inülinin firma tarafından belirtilen özellikleri Çizelge 3.3’te verilmiştir.

Çizelge 3.3. İnülin ürün özellikleri

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 H ₂ S 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 bakteri gelişiminin *in vitro* şartlarda incelenmesi

***Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*'in aktive edilmesi**

Çalışmada kullanılan *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, DSMZ firmasınca önerilen temel gelişme ortamına (Çizelge 3.4) steril şartlar altında ilave edilmiştir. Oksijeni uzaklaştırıp anaerobik inkübasyon şartlarını sağlamak için Anaerocult (Oxoid, İngiltere) kullanılarak anaerobik jarlarda (Merck, Almanya) 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. 24 saat sonunda inkübasyona bırakılan kültürlerin ikinci kez aktivasyonunun sağlanması amacıyla *Bifidobacterium* türlerinin asıl gelişme ortamı olan TPY (Tryptone Peptone Yeast Extract) sıvı besiyerine (Çizelge 3.5) ilave edilerek optimum gelişme sıcaklığı olan 37°C'de tekrar 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda fermantasyonda kullanılmak üzere aktif hale getirilmiş kültürler, %20-30 gliserol ve MRS Broth içeren kriyoviyal tüpler içerisinde, -80°C'de depolanmıştır. Depolanan stok kültür çalışmanın hemen öncesinde MRS Broth besiyerinde 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılarak (mikroorganizma sayısı 8-9 log₁₀ kob/g olacak şekilde) zenginleştirilmiştir.

***Lactobacillus acidophilus*'un aktive edilmesi**

Çalışmada kullanılan *Lactobacillus acidophilus* türü, bileşimi Çizelge 3.6'da belirtilen ve asıl gelişme ortamı olan MRS (De Man, Rogosa and Sharpe) Broth besi ortamına steril şartlar altında ilave edilmiştir. Oksijeni uzaklaştırarak anaerobik inkübasyon şartlarını sağlamak için Anaerocult (Oxoid, İngiltere) kullanılarak anaerobik jarlarda (Merck, Almanya) 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda inkübasyona bırakılan kültürlerin ikinci kez aktivasyonunun sağlanması amacıyla *Lactobacillus* türlerinin gelişme ortamı olan MRS Broth sıvı besiyerine ilave edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda kültürler fermantasyonda kullanılmak üzere aktif hale getirilmiş ve %20-30 gliserol ve MRS Broth içeren kriyoviyal tüpler içerisinde depolanmıştır. -80°C'de depolanan stok kültür çalışmanın hemen öncesinde

(mikroorganizma sayısı 8-9 log₁₀ kob/g olacak şekilde) MRS Broth besiyeri kullanılarak zenginleştirilmiştir.

Çizelge 3.4. *B. animalis* subsp. *lactis* için temel gelişme ortamı bileşimi

Temel gelişme ortamı bileşimi		g/L
Kazein pepton		10,00
Et ekstraktı		5,00
Maya ekstraktı		5,00
Bacto soyton		5,00
Glikoz		10,00
K ₂ HPO ₄		2,00
MgSO ₄ .7H ₂ O		0,20
MnSO ₄ .H ₂ O		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	40,00 mL
NaHCO ₃	10,00	
NaCl	2,00	
Saf su	1000,00 mL	
Rezazurin (25mg/100mL)		4,00 mL
Saf su		950,00 mL

Gelişme ortamı

B. animalis subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* türlerinin stevia ekstraktını prebiyotik olarak değerlendirme ve fermente edebilme yeteneğini belirlemek için temel gelişme ortamı olarak sırasıyla glikoz içermeyen TPY ve MRS sıvı besiyeri kullanılmıştır. %10'luk solüsyonu hazırlanan stevia; 0,45 µm delik çaplı ve tek kullanımlık membran filtre (Millipore, Sartorius AG, Goettingen, Almanya) ile soğuk sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Sterilize edilmiş stevia solüsyonu; son konsantrasyonu %0,025 ve %1 olacak şekilde *B. animalis* subsp. *lactis* için TPY, *L. acidophilus* için ise MRS Broth besi ortamına ilave edilmiştir. Negatif kontrol olarak glikoz içermeyen temel gelişme ortamı

kullanılırken, %1 glikoz ve inülin içeren temel gelişme ortamları pozitif kontroller olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.5. *B. animalis* subsp. *lactis* için asıl gelişme ortamı olan TPY sıvı besiyerinin bileşimi

TPY besiyeri bileşimi	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

Çizelge 3.6. *L. acidophilus* için asıl gelişme ortamı olan MRS Broth sıvı besiyerinin bileşimi

MRS besiyeri bileşim	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

Fermantasyon

L. acidophilus ve *B. animalis* subsp. *lactis* türlerinin stevia ekstraktını kullanarak fermente edebilme yeteneğini tespit etmek amacıyla, stevia solüsyonu son konsantrasyonu %0,025 ve %1 olacak şekilde sırasıyla MRS ve TPY sıvı besiyerine eklenmiş ve daha önce aktivasyonu yapılan bakteriler %2 oranında inokule edilmiştir.

Oksijenin uzaklaştırılması ve anaerobik koşulların sağlanması için Anaerocult (Oxoid, İngiltere) kullanılarak anaerobik jarlarda (Merck, Almanya) 37°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Stevia veya stevia + inülin içeren temel ortamda geliştirilen kültürlerden 0., 12., 24., 36. ve 48. saatlerde alınan örnekler fizikokimyasal (pH, OD₆₀₀); 0., 24. ve 48. saatlerde alınan örnekler ise mikrobiyolojik analizlere (probiyotik bakteri sayısı) tabi tutulmuştur. Fermantasyon sonunda oluşan laktik asit ve KZYA profilini belirlemek için ise 48. saatte örnek alınarak analiz gerçekleştirilmiştir. Ayrıca %1 glikoz ve inülin içeren örnekler kontrol örneği olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada uygulanan deneme deseni Çizelge 3.7’de verilmiştir.

pH analizi

Fermantasyon süresince deneme desenine göre hazırlanmış besiyerlerindeki asitlik gelişiminin saptanması amacıyla pH 315i/SET (WTW, Almanya) marka pH metre kullanılarak inkübasyonun 0., 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde 3 paralelli olarak pH değerleri belirlenmiştir (Ozcan ve ark. 2017).

Çizelge 3.7. Çalışmada kullanılan bakteriler tarafından stevianın fermantasyonunun incelenmesine dair deneme deseni

Bakteri türü	Besiyeri Çeşidi
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	Kontrol
	%1 Glikoz
	%1 İnülin
	%1 Stevia
	%1 Stevia + %1 İnülin
	%0,025 Stevia
	%0,025 Stevia + %1 İnülin
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Kontrol
	%1 Glikoz
	%1 İnülin
	%1 Stevia + %1 İnülin
	%1 Stevia
	%0,025 Stevia
	%0,025 Stevia + %1 İnülin

Optik yoğunluk (OD₆₀₀)

Deneme desenine göre hazırlanmış olan, temel ortamlarda geliştirilen kültürlerin besiyerindeki steviayı fermente edebilme yeteneklerinin saptanması amacıyla hücre yoğunluk değerleri fermantasyonun 0., 12., 24., 36. ve 48. Saatlerinde Shimadzu UV 1800 model (Shimadzu UV 1800, Kyoto, Japonya) spektrofotometre kullanılarak 600 nm’de ölçülerek saptanmıştır (Ozcan ve ark. 2017).

Probiyotik bakteri sayısının belirlenmesi

Bakteriyel popülasyondaki değişim analizi, negatif kontrol (glikoz içermeyen), pozitif kontrol (glikoz ve inülin içeren) ve stevia katkılı besiyerinde *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* türlerinin gelişme yeteneğini karşılaştırmalı olarak tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Fermantasyonun 0., 24. ve 48. saatlerinde alınan örneklerde *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* için MRS agar kullanılarak mikrobiyolojik ekim yapılmış ve ardından 37°C’de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen bakterilerin sayısı (30-300 kob/g) belirlenmiştir (Nowroozi ve ark. 2004, Presti ve ark. 2015, Shalini ve ark. 2017).

Prebiyotik aktivite sayısı

Prebiyotik aktivite sayısı analizi, deneme desenine göre hazırlanmış stevia katkılı besiyerinde *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* türlerinin gelişme yeteneğini karşılaştırmalı olarak tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla stevianın yanı sıra prebiyotik özellikte olmayan bir karbonhidrat olan glikoz substrat olarak kullanılmıştır. Huebner ve ark. (2007)’nin önerdiği yöntemine göre; bir gecelik kültürler %2 (v/v) oranında, son konsantrasyonda %1 oranında glikoz ve stevia içeren *B. animalis* subsp. *lactis* için TPY sıvı besiyerine, *L. acidophilus* için MRS sıvı besiyerine ve *Enterococcus* türleri için ise Triptik Soya (Triptik Soy Broth - TSB: 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 besiyerine ilave edilmiş ve kültürler 37°C’de aneorobik koşullar altında fermantasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0. ve 24. saatlerinde örneklerin hücre yoğunlukları UV-Spektrofotometre)

Shimadzu UV 1800, Kyoto, Japonya) kullanılarak 600 nm'deki optik yoğunluk değerleri ölçülerek aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Bu analizde kullanılan *Enterococcus* türleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kültür Koleksiyonu'ndan temin edilmiştir.

$$PAS = \frac{[(\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{24 \text{ Prebiyotik OD}_{600}}) - (\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{0 \text{ Prebiyotik OD}_{600}})]}{(\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{24 \text{ Glikoz OD}_{600}}) - (\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{0 \text{ Glikoz OD}_{600}})]} \cdot \frac{[(\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{24 \text{ Prebiyotik OD}_{600}}) - (\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{0 \text{ Prebiyotik OD}_{600}})]}{(\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{24 \text{ Glikoz OD}_{600}}) - (\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{0 \text{ Glikoz OD}_{600}})]}$$

Fermantasyon son ürünlerinin analizi

Fermantasyonun 48. saatinde *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* türleri tarafından üretilen laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarları ve toplam kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) miktarı hesaplanmıştır. Laktik asit analizi DAD (SPD-M20A) dedektörlü Shimadzu Prominence marka 20ACBM model yüksek performans likit kromatografi (HPLC, Japonya) sistemi ile Inertsil ODS-4 (250 mm* 4,6 mm, 5µm; GP Sciences, Japonya) kolonu kullanılarak saptanmıştır. Mobil faz olarak pH'sı ortofosforik asitle 3'e ayarlanmış ultra saf su kullanılmıştır (Anonim 2012). Asetik, propiyonik ve bütirik asit analizi Agilent 7697A Headspace ve Agilent 7890A GC 5975C MS cihazları kullanılarak, Yılmaz ve Seçilmiş (2006) tarafından önerilen 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. Analiz öncesinde cihazın analitik koşulları; 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.

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

A: Asetik asit

B: Bütirik asit

P: Propiyonik asit

3.2.2. Stevia katkılı probiyotik yoğurt üretimi ve uygulanan analizler

Probiyotik yoğurt kültürlerinin aktive edilmesi

Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt üretiminde kullanılacak olan probiyotik kültürler, Ozcan ve ark. (2017) tarafından belirtilen yöntemine göre hazırlanmıştır. %10,70 ($\pm 0,03$) kuru maddeli rekonstitüe süt özel kapaklı şişelere aktarılarak otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Bunu takiben 37°C'ye soğutulan sütün içerisine DVS probiyotik kültürler (*B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*) aseptik şartlarda inoküle edilmiş ve pH 4,8'e ulaşana dek inkübasyona bırakılmıştır.

Probiyotik yoğurt üretimi ve deneme deseni

Kontrol grubu probiyotik yoğurtların üretimi: Hazırlanan rekonstitüe süte (%10,70 kuru madde) 90°C'de 10 dk süreyle ısıtma işlemi uygulanarak 37°C'ye soğutulmuştur. Uygun aseptik şartlar altında *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* suşlarını içeren probiyotik kültürlerin 10^8 kob/g olacak şekilde (%3 oranında) inokülasyonu gerçekleştirilmiş, pH 4,7'ye ulaşana dek 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda oda sıcaklığında (20°C) 30 dk bekletilmiş ve bunu takiben polistren ambalajlardaki yoğurtların kapakları kapatılarak depolama süresi boyunca 4°C'de muhafaza edilmiştir (Çizelge 3.8) (Şekil 3.1).

Stevia katkılı probiyotik yoğurt üretimi: Ön deneme üretimleri sırasında ürünün duyuşal ve tekstürel niteliklerini optimize etmek açısından farklı oranlarda stevia ilavesi değerlendirilmiş (0,01, 0,025, 0,05, 0,075, 0,1, 0,15, 0,2); probiyotik yoğurt üretiminde %0,025 oranında stevia katkısının kullanılmasına karar verilmiştir. Probiyotik yoğurt üretiminde %10,70 kuru maddeli rekonstitüe süte %0,025 oranında stevia ve %0,025 stevia + %1 inülin ilave edilerek, 90°C'de 10 dk süreyle ısıtma işlemi uygulanmıştır. Homojen şekilde karışması ve uygun aseptik koşullar sağlandıktan sonra *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* suşlarını içeren probiyotik kültürler inoküle edilmiş (10^8 kob/g olacak şekilde ve %3 oranında) ve pH 4,7'ye ulaşana dek 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda oda sıcaklığında (20°C) 30 dk bekletilen polistren

ambalajlardaki yoğurtların kapakları kapatılarak depolama süresi boyunca 4°C’de muhafaza edilmiştir (Çizelge 3.8) (Şekil 3.1).

Çizelge 3.8. Probiyotik yoğurt örneklerine ait deneme deseni

Örnek	Yoğurt İçeriği
B	<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> probiyotik kültürü kullanılarak üretilen kontrol grubu probiyotik yoğurt
L	<i>L. acidophilus</i> probiyotik kültürü kullanılarak üretilen kontrol grubu probiyotik yoğurt
BS	<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> probiyotik kültürü ve %0,025 oranında stevia kullanılarak üretilen probiyotik yoğurt
LS	<i>L. acidophilus</i> probiyotik kültürü ve %0,025 oranında stevia kullanılarak üretilen probiyotik yoğurt
BSİ	<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> probiyotik kültürü ve %0,025 stevia+ %1 inülin kullanılarak üretilen probiyotik yoğurt
LSİ	<i>L. acidophilus</i> probiyotik kültürü ve %0,025 stevia+ %1 inülin kullanılarak üretilen probiyotik yoğurt

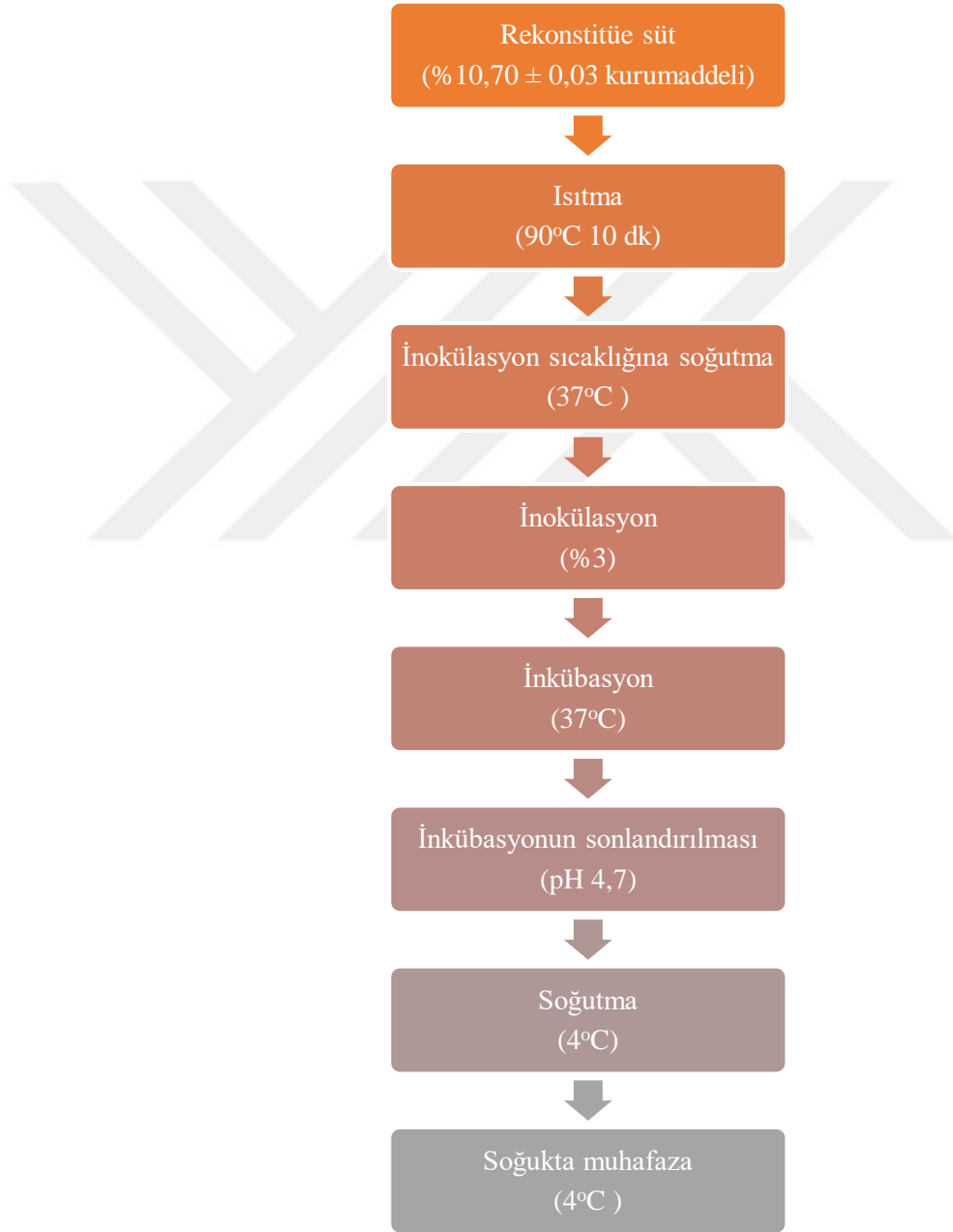
Yoğurt örneklerinde probiyotik bakteri sayısının belirlenmesi

Homojen hale getirilen 10 g kontrol ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örnekleri içerisinde 90 ml fizyolojik tuzlu su içerisine steril şartlarda aktarılmış ve içerisinde 9 ml fizyolojik tuzlu su bulunan tüplerde 10^{-9} 'a kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır. Mikrobiyolojik ekimler dökme plak yöntemi kullanılarak 3 paralelli olacak şekilde gerçekleştirilmiştir (Abdollahzadeh ve ark. 2018)

B. animalis subsp. *lactis* sayısının belirlenmesi

B. animalis subsp. *lactis* sayının belirlenmesinde besiyeri olarak MRS agar (Merck, Almanya) kullanılmış ve dökme plak yöntemi uygulanarak mikrobiyolojik ekim yapılmıştır. Steril petri kutularına 10^{-1} - 10^{-9} 'luk dilüsyonlardan 1'er mL konularak üzerine sterilize edilmiş ve 40-45°C'ye soğutulmuş MRS agardan ince bir tabaka olacak şekilde 12-15 mL dökülmüştür. Rotasyon hareketi ile besiyeri ve örneğin iyice karışması

sağlanmış, besiyerinin katılaşması için geçen 30 dk'lık sürenin sonunda petri kutuları ters çevrilerek 37°C'de 72 saat anaerobik inkübasyona bırakılmıştır. Aneorobik koşulların sağlanması için anaerobik jar (Merck, Almanya) ve Anaerocult (Oxoid, İngiltere) kullanılmıştır. İnkübasyondan sonra oluşan koloniler (30-300 kob/g) sayılarak mL'deki *B. animalis* subsp. *lactis* sayısı saptanmış ve sonuçlar logaritmik olarak verilmiştir (Sims ve ark. 2014).



Şekil 3.1. Probiyotik yoğurt üretimi

***L. acidophilus* sayısının belirlenmesi**

L. acidophilus belirlenmesinde besiyeri olarak MRS agar (Merck, Almanya) kullanılmış ve dökme plak yöntemi uygulanarak mikrobiyolojik ekim yapılmıştır. Steril petri kutularına 10⁻¹-10⁻⁹'luk dilüsyonlardan 1'er mL konularak üzerine önceden eritilmiş ve 40-45°C'ye soğutulmuş MRS agardan ince bir tabaka olacak şekilde 12-15 mL dökülmüştür. Rotasyon hareketi ile besiyeri ve örneğin iyice karışması sağlanmış, besiyerinin katılaşması için geçen 30 dk'lık sürenin sonunda petri kutuları ters çevrilerek 37°C'de 72 saat anaerobik inkübasyona bırakılmıştır. Anaerobik koşullar, anaerobik jar (Merck, Almanya) ve Anaerocult (Oxoid, İngiltere) kullanılarak sağlanmıştır. İnkübasyondan sonra oluşan koloniler (30-300 kob/g) sayılarak mL'deki *L. acidophilus* sayısı saptanmış ve sonuçlar logaritmik olarak belirtilmiştir (Muelas ve ark. 2018).

Yoğurt örneklerinde fizikokimyasal analizler

Kontrol ve stevia katkıli probiyotik yoğurt örneklerinde uygulanan fizikokimyasal analizler depolamanın 1., 7., 14., 21. ve 28. gününde gerçekleştirilmiştir.

Titrasyon asitliği

Kontrol ve stevia katkıli probiyotik yoğurt örneklerinin titrasyon asitliğini belirlemek için; 10 g örnek üzerine 10 mL saf su eklenmiş ve 0,1 N NaOH ile en az 30 saniye kalıcı açık pembe renk elde edilinceye dek titre edilmiştir. % asitlik miktarı aşağıdaki formül doğrultusunda hesaplanmıştır (Agil ve Hosseinian 2012).

$$\% \text{ Titrasyon asitliği (\% LA)} = \frac{S \times 0,009}{\text{Ö}} \times 100$$

S: Titrasyonda kullanılan 0,1 N NaOH çözeltisi (mL)

Ö: Titrasyonda kullanılan yoğurt miktarı

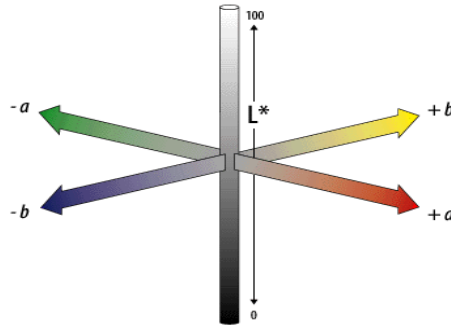
Serum ayrılması

Kontrol ve stevia katkıli probiyotik yoğurt örneklerinde serum ayrılması miktarının tespit edilmesi için; 25 g yoğurt örneği 4°C'de 2 saatlik süre boyunca filtre kağıdından

süzülmeye bırakılmıştır. Süre sonunda süzülerek ayrılan serum miktarı mL cinsinden belirlenerek sonuç mL/25g olarak ifade edilmiştir (Delikanlı ve Özcan 2014).

Renk Tayini

Kontrol ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin renk tayininde MSEZ-4500L HunterLab (Virginia, USA) cihazı kullanılarak, örneklerin L (parlaklık), a (+ kırmızı, - yeşil) ve b (+ sarı, - mavi) değerleri belirlenmiştir. Siyah ve beyaz tablalar yardımıyla cihazın renk değerleri standartlaştırılmış ve sonrasında örneğin üç farklı noktasından ölçümler yapılarak aritmetik ortalamaları alınmıştır (Cueva ve Aryana 2008). Şekil 3.2.'de Hunter renk sistemindeki parametrelerin (L , a ve b) skalası verilmektedir.



Şekil 3.2. Hunter sistemindeki L , a ve b parametrelerinin renk skalası

Tekstürel analizler

Kontrol ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin enstrümental tekstürel özellikleri Joon ve ark. (2017) tarafından önerilen yöntem esas alınarak Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde bulunan Texture Analyser TA- Plus (Lloyd Instruments) cihazı ile 30 kg'lık yük hücresi ve spesifik ters ekstrüzyon (back extrusion) testi uygulanarak belirlenmiştir. Standardizasyonu sağlamak amacıyla her yoğurt örneğinin üretiminde derinliği 4 cm olan 100 g'lık plastik kaplar kullanılmış ve analiz 25°C'de gerçekleştirilmiştir. Uygulanan back ekstrüzyon testi analizinde baskılama işlemi 1 mm.s⁻¹ crosshead hızında 40 mm çapında 35 mm derinliğindeki probun yoğurt

örneğine daldırılması ile sağlanmıştır. Sıkıştırma işlemi esnasında probun yoğurda daldırılması ile pozitif, yoğurttan çıkarılması ile ise negatif alan grafikleri elde edilmektedir. Back ekstrüzyon tekniğine göre elde edilen grafiklerden yola çıkılarak yoğurt örneklerinin tekstürü hakkında bilgi veren parametrelerin hesaplanması Texture Exponent 32 (2007) software (Stable Micro Systems, Godalming, UK) yazılımı aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Değerlendirmeye alınan parametrelerden sertlik (firmness; g), maksimum pozitif kuvvet; konsistens (gs), pozitif bölgenin alanı; iç yapışkanlık (cohesiveness; g), maksimum negatif kuvvet; viskozite indeksi (index of viscosity; gs) ise negatif bölgenin alanı olarak belirlenmiştir. Back ekstrüzyon işlemi sırasında probun örnek içine girmesiyle sertlik ve konsistens, örnek içinden çıkmasıyla iç yapışkanlık ve viskozite indeksi ölçülmüştür.

Yoğurt örneklerinde duyu analizler

Kontrol ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin tüketici beğenisi ve tercihini test etmek amacıyla duyu analiz yapılmış ve duyu değerlendirme Yıldız ve Özcan (2019) tarafından hazırlanan değerlendirme skalası kullanılarak Bursa UÜ Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyeleri ve lisansüstü öğrencilerinden oluşan 8 kişilik eğitilmiş panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Duyu analiz değerlendirmesi için 4°C'de depolanan örnekler 12-15°C'de panelistlere sunulmuştur. Probiyotik yoğurt örnekleri panelist grubu tarafından 'görünüş', 'yapı ve tekstür', 'koku', 'renk', 'aroma yoğunluğu', 'tat', 'duyu asitlik' ve 'genel kabul edilebilirlik' açısından değerlendirilmiş, her bir özellik için 1-5 puan sistemi (1: Kabul edilen en düşük değer, 5: Kabul edilen en yüksek değer) kullanılmıştır. Duyu değerlendirme sırasında panelistlere su ve kraker ikramıyla aroma farklılıklarını daha rahat algılayabilmelerinin sağlanması amaçlanmıştır. Panelistlerden spesifik duyu özellikleri de belirtmesi istenmiştir (Görünüş: parlaklık, matlık, üniform olup olmaması, serum ayrılması; Yapı ve Tekstür: viskozite, pürüzlülük, ağızda bıraktığı his; Koku: yabancı koku; Renk: beyaz, krem-beyaz, sarımsı renk; Aroma Yoğunluğu: karakteristik olmayan ve istenmeyen aroma; Tat: ekşi, acı, tatlı, mayamsı, küflü, keskin, ransit, kremamsı, sütsü, metalik, tebeşirimsi tat).

İstatistiksel analizler

İlk basamak olan *in vitro* çalışmada *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* türlerinin karbonhidrat içermeyen besi ortamına ilave edilen steviayı kullanarak fermente edebilme yeteneklerini belirlemek amacıyla negatif ve pozitif kontroller ile karşılaştırma yapılarak gerçekleştirilen analizlerde, elde edilen verilerdeki farklılıkların tespit edilmesinde ve çalışmanın ikinci basamağında mikrobiyolojik, fizikokimyasal, tekstürel ve duyuşal özelliklerde meydana gelen farklılıklara bağılı olarak da elde edilen verilere varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Çalışma süresince elde edilen ortalamalar arasındaki önemli düzeyde görülen farklılıkların karşılaştırılması ise Fisher LSD testi ile gerçekleştirilmiştir ($p<0,05$, $p<0,01$).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Stevianın prebiyotik potansiyelinin *in vitro* koşullarda araştırılması

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

Prebiyotikler kolondaki *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri gibi mikroorganizmalarca fermente edilerek insan sağlığı için önemli olan bu bakterilerin üremesini ve/veya aktivitesini teşvik etmektedirler. Probiyotik bakteri fermantasyonu sonucunda ise laktik asidin yanı sıra asetik, propiyonik, bütirik asit gibi KZYA ve sekonder metabolitler meydana gelmektedir. Epitelyal hücreler için önemli enerji kaynağı olan KZYA, kolon pH'sını düşürmekte ve bağırsak bariyer bütünlüğünü arttırmaktadır. Bu nedenle fermantasyon esnasında mikroorganizmaların hızlıca asit üreterek pH'yı düşürme yeteneği probiyotik kültür seçiminde istenen önemli bir özellik olarak ortaya çıkmaktadır (Tripathi ve Giri 2014, Derikx ve ark. 2016, Yahfoufi ve ark. 2018).

B. animalis subsp. *lactis*'in glikoz içermeyen (negatif kontrol), glikoz içeren (pozitif kontrol), inülin ve/veya stevia katkılı sıvı besiyerlerinde fermantasyonu süresince gelişimini belirlemek için besiyeri örneklerinde saptanan optik yoğunluk (OD₆₀₀), pH değişimi ve *B. animalis* subsp. *lactis* sayısı Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Besiyeri örneklerinin pH değerleri 3,33 ile 6,22 arasında değişim göstermiş; en düşük pH değeri fermantasyonun 48. saatinde, en yüksek pH değeri ise 0. saatte ölçülmüştür (Çizelge 4.1).

Canlı hücrelerin üremeleri sonucu ortamda meydana getirdikleri değişikliklerin (bulanıklık, renk vb.) ya da oluşturdukları bazı ürünlerin (gaz vb.) gözlemlenmesine bağlı olarak mikroorganizma sayılarının belirlenmesi mümkün olabilmektedir. İndirekt sayım yöntemlerinde bakterilerin ve diğer tek hücreli mikroorganizmaların kültürlerindeki bulanıklık veya absorbanın ölçülmesiyle OD değerine ulaşılabilir. 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 (Shuler ve Kargi 2005, Griffiths ve ark. 2011).

B. animalis subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermantasyonu süresince besiyeri örneklerinin hücre yoğunluğu değerini belirlemek amacıyla uygulanan analiz sonucunda ölçülen OD₆₀₀ değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Besiyeri örneklerinin OD₆₀₀ değerleri 0,175 ile 1,684 arasında değişim göstermiş; en yüksek OD₆₀₀ değeri fermantasyonun 48. saatinde, en düşük OD₆₀₀ değeri ise 0. saatte ölçülmüştür.

Lactobacillus ve *Bifidobacterium* spp. gibi probiyotik bakteriler potansiyel sağlık yararları nedeniyle son yıllarda fonksiyonel gıdaların bileşimine katılmaktadır. Söz konusu probiyotik aktivitenin gerçekleşebilmesi açısından bakterinin canlılığı ve gelişme oranı ise oldukça önemlidir. Probiyotiklerin gelişme oranı; pH, sıcaklık, çözünmüş oksijen miktarı, rekabetçi mikroorganizma ve mikrobiyel inhibitör varlığı gibi pek çok parametreden önemli ölçüde etkilenebilmektedir. Probiyotiklerin gelişimleri fermantasyon boyunca kademeli olarak gerçekleşmekte; inülin ve oligosakkarit gibi prebiyotik substratların varlığı bakteri gelişimini teşvik ederek gelişme oranını olumlu yönde etkilemektedir (Shah ve ark. 2000, Sultana ve ark. 2000, Akin ve ark. 2007, Mahmoudi ve ark. 2013, Shori ve ark. 2016, Singh ve ark. 2018).

Fermantasyon süresince *B. animalis* subsp. *lactis* sayısını (log₁₀ kob/mL) belirlemek amacıyla uygulanan analiz sonucunda saptanan bakteri sayısı değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Besiyeri örneklerinde *B. animalis* subsp. *lactis* sayısı 6,60 log₁₀ kob/mL ile 8,23 log₁₀ kob/mL arasında değişim göstermiş; en yüksek bakteri sayısı fermantasyonun 24. saatinde, en düşük bakteri sayısı ise 48. saatte saptanmıştır. Örneklerin bakteri sayıları arasındaki farklılıkların, değişen substrat bileşimine bağlı olarak besi ortamlarındaki prebiyotikler ve diğer kolay erişilebilir sakkaritlerin varlığı ile birlikte desteklendiğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.1. *B. animalis* subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermantasyonu süresince besiyeri örneklerindeki pH, OD₆₀₀ değişimi ve *B. animalis* subsp. *lactis* sayısı (log₁₀ kob/mL)

Besiyeri Çeşidi	pH					OD ₆₀₀					<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Sayısı (log ₁₀ kob/mL)		
	0. Saat	12. Saat	24. Saat	36. Saat	48. Saat	0. Saat	12. Saat	24. Saat	36. Saat	48. Saat	0. Saat	24. Saat	48. Saat
Negatif Kontrol	6,22	5,48	5,53	5,47	5,42	0,231	0,634	0,414	0,433	0,469	7,21	7,15	6,86
%1 Glikoz	5,94	3,62	3,55	3,50	3,33	0,206	1,300	1,466	1,531	1,684	7,30	8,23	8,00
%1 İnülin	6,14	4,53	4,50	4,52	4,31	0,175	0,753	0,742	0,701	0,655	7,20	7,78	7,78
%1 Stevia	6,14	5,23	5,44	5,23	5,18	0,185	1,307	0,322	0,295	0,261	7,33	7,80	6,60
%1 Stevia + %1 İnülin	6,16	4,40	4,41	4,37	4,34	0,178	0,669	0,781	0,583	0,579	7,28	7,58	6,85
%0,025 Stevia	6,17	5,34	5,27	5,29	5,48	0,200	0,363	0,454	0,284	0,329	7,41	7,65	8,00
%0,025 Stevia + %1 İnülin	6,17	4,44	4,45	4,44	4,36	0,183	0,706	0,746	0,663	0,662	7,24	7,65	7,90
Minimum	5,94	3,62	3,55	3,50	3,33	0,175	0,363	0,322	0,284	0,261	7,20	7,15	6,60
Maksimum	6,22	5,48	5,53	5,47	5,48	0,231	1,307	1,466	1,531	1,684	7,41	8,23	8,00
Ortalama	6,13	4,72	4,73	4,69	4,63	0,194	0,819	0,704	0,642	0,663	7,28	7,69	7,43

Deneme desenine göre hazırlanmış besiyeri örneklerinin pH ve OD₆₀₀ değerlerinin 48 saatlik fermantasyon süresince değişimini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizine göre; besiyeri çeşidi ve fermantasyon süresi farklılıkları ile besiyeri çeşidi x fermantasyon süresi interaksyonu istatistiksel açıdan $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2). Örnekler arasındaki farklılığın deneme deseninde belirtildiği gibi besiyeri bileşimlerinin farklı olması; glikoz, inülin ve stevia katkılarına bağlı olarak fermantasyon koşullarının değişimi ile bakterinin farklı gelişme oranı göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

B. animalis subsp. *lactis*'in fermantasyonu süresince besiyeri örneklerinin pH ve OD₆₀₀ değerlerine ilişkin LSD testi sonuçlarına göre tüm örnekler istatistiki olarak farklı gruplara dahil olmuştur. Çizelge 4.2'ye göre en düşük pH değerinin (3,99) %1 glikoz, en yüksek pH değerinin (5,64) ise negatif kontrol örneğine ait olduğu saptanmıştır. Bulgular incelendiğinde *B. animalis* subsp. *lactis*'in stevia içeren tüm besi ortamlarında aktivite göstererek asitlik gelişimini sağladığı, stevia içerisinde bulunan karbonhidrat ve diğer bileşenlerin *B. animalis* subsp. *lactis* tarafından değerlendirilebildiği görülmektedir. Bununla birlikte inülin + stevia içeren besi ortamlarında ise (%0,025 stevia + %1 inülin ve %1 stevia + %1 inülin) fermantasyon gelişiminin stevianın tek başına kullanımına göre daha fazla olduğu ve bu ortamlarda daha düşük pH değerleri ile daha yüksek OD₆₀₀ değerlerinin ölçüldüğü saptanmıştır. En yüksek pH ve en düşük OD₆₀₀ değerinin karbonhidrat içermeyen kontrol örneğinde ölçülmesi, enerji kaynağı yetersizliği nedeniyle *B. animalis* subsp. *lactis*'in gelişme gösterememesi ve buna bağlı olarak asitliğin gelişmemesini kanıtlar niteliktedir.

B. animalis subsp. *lactis*'in fermantasyonu süresince besiyeri örneklerinin pH ve OD₆₀₀ değerlerinin fermantasyon süresine ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiş, fermantasyon süresince meydana gelen farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0,01$). Deneme desenine göre hazırlanan besi ortamlarındaki asitlik gelişimi ve pH değişimine fermantasyon süresinin etkisi incelendiğinde; en yüksek ortalama pH değerinin (6,13) 0. saatte, en düşük pH değerinin (4,63) ise 48. saatte ölçüldüğü görülmüştür. Buna ek olarak *B. animalis* subsp. *lactis*'in hücre yoğunluğu değerinin fermantasyon süresince arttığı ve pH'nın ise azaldığı tespit edilirken; 12-24. saatler arasındaki değişimin istatistiksel açıdan farklılık göstermemesinin besiyerinde bulunan

karbonhidrat kaynaklarının azalması ve bu zaman aralığında *B. animalis* subsp. *lactis*'in ortam koşullarına adaptasyonu sebebiyle bakteri gelişimi ve pH düşüşünün 48. saate kadar devam etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.2. *B. animalis* subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermantasyonu süresince besiyeri örneklerinin pH, OD₆₀₀ değerleri ve *B. animalis* subsp. *lactis* sayısı (log₁₀ kob/mL)'na ait LSD testi sonuçları

Besiyeri Çeşidi	N	pH	OD ₆₀₀	<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Sayısı (log ₁₀ kob/mL)
Negatif Kontrol	15	5,64 ^a	0,433 ^g	7,07 ^c
%1 Glikoz	15	3,99 ^g	1,227 ^a	7,84 ^a
%1 İnülin	15	4,80 ^d	0,835 ^c	7,59 ^{ab}
%1 Stevia	15	5,43 ^c	0,598 ^e	7,24 ^{bc}
%1 Stevia + %1 İnülin	15	4,74 ^f	0,718 ^d	7,24 ^{bc}
%0,025 Stevia	15	5,51 ^b	0,544 ^f	7,69 ^a
% 0,025 Stevia + %1 İnülin	15	4,77 ^c	0,956 ^b	7,60 ^{ab}
Fermantasyon Süresi				
0	21	6,13 ^a	0,194 ^e	7,28 ^b
12	21	4,72 ^b	0,819 ^a	-
24	21	4,73 ^b	0,704 ^b	7,69 ^a
36	21	4,69 ^c	0,642 ^d	-
48	21	4,63 ^d	0,663 ^c	7,43 ^b
ANOVA				
Besiyeri Çeşidi (B)	6	**	**	**
Fermantasyon Süresi (F)	4	**	**	**
B x F	24	**	**	**
Hata	70			

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

Deneme desenine göre hazırlanan besi ortamlarındaki hücre yoğunluğuna bağlı OD₆₀₀ değişimine fermantasyon süresinin etkisi incelendiğinde; en düşük ortalama OD₆₀₀ değerinin (0,194) 0. saatte, en yüksek OD₆₀₀ değerinin (0,819) ise 12. saatte ölçüldüğü görülmüştür. Buna ek olarak *B. animalis* subsp. *lactis*'in gelişiminin; fermantasyonun 12. ve 36. saatleri arasında azaldığı, 36. saatten sonra bir miktar daha arttığı tespit edilmiştir. İlk 24 saatte hızla gelişen *B. animalis* subsp. *lactis*'in fermantasyonu sonucu besiyerinde bulunan karbonhidrat kaynaklarının azalması ve toksik etkili metabolitlerin birikmesiyle ortam koşullarının hızla değişmesine bağlı olarak hücre yoğunluğunun 12. ve 36. saatler

arası azaldığı; 36. saatten sonra bakterinin ortam koşullarına adaptasyonu ile hücre yoğunluğunun bir miktar daha arttığı düşünülmektedir.

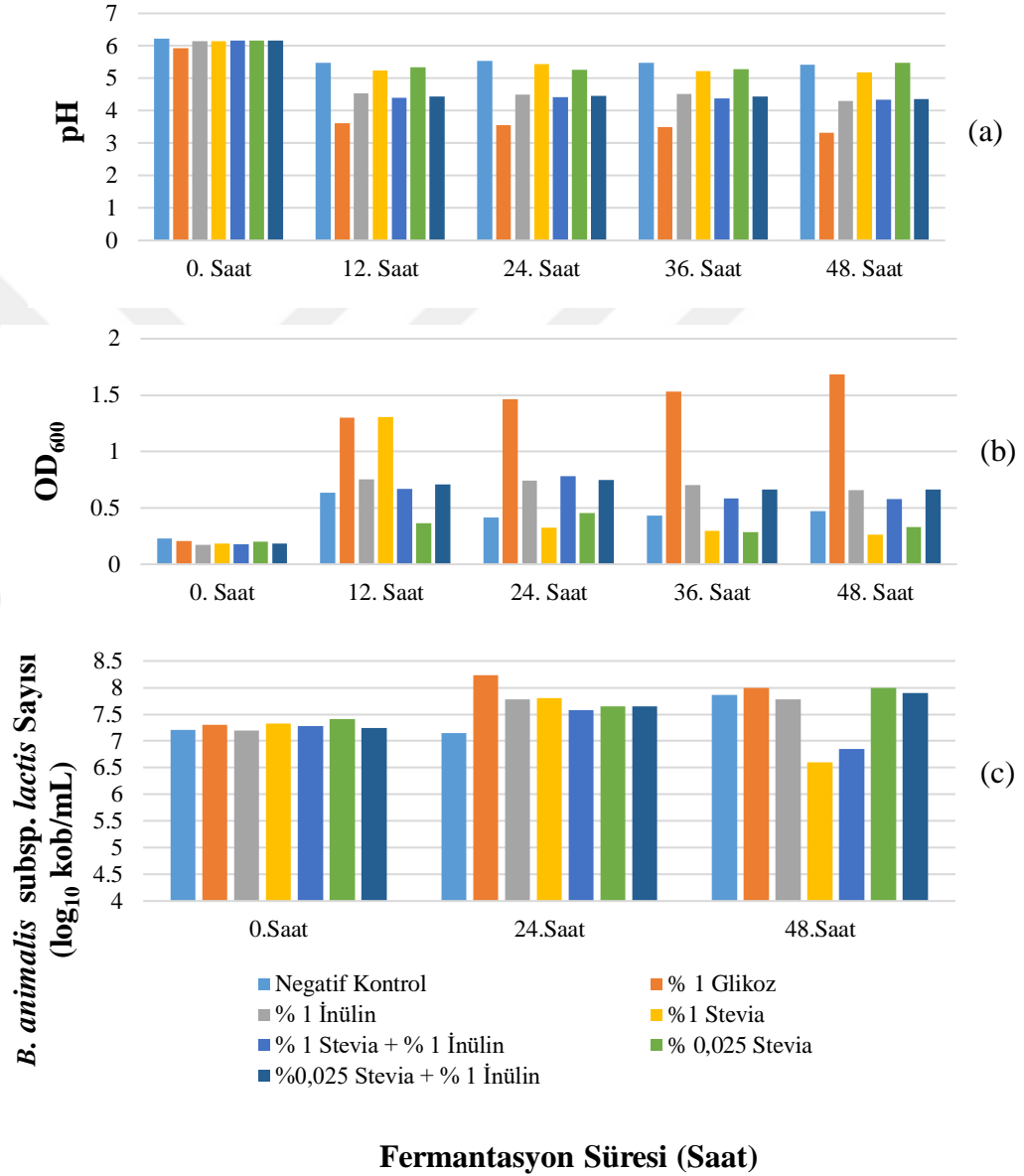
Deneme desenine göre hazırlanmış glikoz, inülin ve stevia içeren besiyeri örneklerinde fermantasyon süresince *B. animalis* subsp. *lactis* sayısını belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonuçlarına göre; besiyeri çeşidi, fermantasyon süresi ve besiyeri çeşidi x fermantasyon süresi arasındaki farklılık istatistiksel açıdan $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2). Bakteri gelişimindeki farklılığın glikoz, inülin ve stevia'nın prebiyotik potansiyellerinin farklı olması ve fermantasyonun farklı düzeyde gerçekleşmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

B. animalis subsp. *lactis*'in fermantasyonu süresince bakteri gelişimine ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde en düşük bakteri sayısının ($7,07 \log_{10}$ kob/mL) negatif kontrol; en yüksek bakteri sayısının ($7,84 \log_{10}$ kob/mL ve $7,69 \log_{10}$ kob/mL) ise %1 glikoz ve %0,025 stevia içeren örneklere ait olduğu görülmektedir. Elde edilen verilere göre *B. animalis* subsp. *lactis* stevia içeren tüm besi ortamlarında yüksek oranda gelişim göstermiş; ancak %0,025 stevia içeren ortamlarda en yüksek gelişme oranına sahip bulunmuştur. Stevia içeren ortamlardaki bakteri sayısının yüksek olması; hatta %0,025 stevia içeren ortamdaki bakteri sayısının prebiyotik özellik gösteren inülin içeren ortamdaki bakteri sayısından daha fazla olması stevia'nın potansiyel prebiyotik özelliğine dikkat çekmektedir. En düşük prebiyotik bakteri sayısının karbonhidrat içermeyen negatif kontrol örneğinde saptanmasının ise substrat yetersizliği nedeniyle *B. animalis* subsp. *lactis*'in gelişme gösterememesine bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Farklı besi ortamlarında *B. animalis* subsp. *lactis* sayısındaki (\log_{10} kob/mL) değişime fermantasyon süresinin etkisi incelendiğinde; en düşük ortalama bakteri sayısının ($7,28 \log_{10}$ kob/mL) 0. saatte, en yüksek bakteri sayısının ($7,69 \log_{10}$ kob/mL) ise 24. saatte saptandığı görülmüştür. Buna ek olarak *B. animalis* subsp. *lactis*'in gelişimi ve sayısının; fermantasyonun 24. saatine kadar arttığı, 24 ve 48. saatler arasında azaldığı tespit edilmiştir. 24. ve 48. saatler arasında *B. animalis* subsp. *lactis* sayısındaki düşüşün, ilk 24 saatte hızla gelişen fermantasyon sonucu besiyerinde bulunan karbonhidrat kaynaklarının

azalması ve toksik etkili metabolitlerin birikmesiyle ortamdaki bakterilerin canlılığını sürdürmemesine bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir.

B. animalis subsp. *lactis*'in fermantasyonu süresince besiyeri örneklerinde meydana gelen pH değişimleri, OD₆₀₀ değerleri ve *B. animalis* subsp. *lactis* sayıları şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Fermantasyon süresince besiyeri örneklerinde pH (a), OD₆₀₀ (b) değerleri ve *B. animalis* subsp. *lactis* sayısı (log₁₀ kob/mL) (c)

4.1.2. *L. acidophilus*'un *in vitro* koşullarda gelişiminin belirlenmesi

L. acidophilus'un; glikoz içermeyen (negatif kontrol), glikoz içeren (pozitif kontrol), inülin ve/veya stevia ilave edilmiş sıvı besi ortamlarında 48 saatlik fermantasyon süresince gelişimini belirlemek amacıyla besiyeri örneklerinde saptanan optik yoğunluk (OD_{600}) ve pH değerleri ile *L. acidophilus* sayısı Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Besiyeri örneklerinin pH değerleri 4,03 ile 6,59 arasında değişim göstermiş; en yüksek pH değeri 0. saatte, en düşük pH değeri ise fermantasyonun 48. saatinde ölçülmüştür (Çizelge 4.3).

L. acidophilus'un fermantasyonu boyunca besiyeri örneklerinin hücre yoğunluğu değerini saptamak amacıyla uygulanan analiz sonucunda ölçülen OD_{600} değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Besiyeri örneklerinin OD_{600} değerleri 0,122 ile 1,793 arasında değişim göstermiş; en düşük OD_{600} değeri 0. saatte, en yüksek OD_{600} değeri ise fermantasyonun 48. saatinde ölçülmüştür.

Besiyeri örneklerinin pH ve OD_{600} değerinin fermantasyon süresince değişimini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizine göre; besiyeri çeşidi ve fermantasyon süresi farklılıkları ile besiyeri çeşidi x fermantasyon süresi interaksyonu istatistiksel açıdan $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.4). Çalışmada kullanılan besiyeri bileşimlerinin farklılığının ve *L. acidophilus* tarafından fermente edilebilecek substratları farklı oranda bulundurmasının, bakterinin gelişme oranını etkileyerek örnekler arasında istatistiksel açıdan farklılık yarattığı düşünülmektedir.

Fermantasyon süresince pH ve OD_{600} değerlerine ilişkin LSD testi sonuçlarına göre tüm örnekler istatistiki olarak farklı gruplara dahil olmuştur ($p < 0,01$) (Çizelge 4.4). Çizelge 4.4'e göre en düşük pH değerinin 4,76 ile %1 glikoz, en yüksek pH değerinin ise 6,08 ile kontrol örneğine ait olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre *L. acidophilus*, stevia içeren tüm besi ortamlarında aktivite göstererek asitlik gelişimini sağlamış, fermantasyon esnasında stevia içerisinde bulunan karbonhidrat ve diğer bileşenleri substrat olarak değerlendirebilmiştir.

Çizelge 4.3. *L. acidophilus*'un 48 saatlik fermantasyonu süresince besiyeri örneklerindeki pH ve OD₆₀₀ değişimi ile *L. acidophilus* sayısı (log₁₀ kob/mL)

Besiyeri Çeşidi	pH					OD ₆₀₀					<i>L. acidophilus</i> Sayısı (log ₁₀ kob/mL)		
	0. Saat	12. Saat	24. Saat	36. Saat	48. Saat	0. Saat	12. Saat	24. Saat	36. Saat	48. Saat	0. Saat	24. Saat	48. Saat
Negatif Kontrol	6,59	5,95	5,94	5,90	6,03	0,134	0,581	0,509	0,544	1,055	7,11	7,85	6,78
%1 Glikoz	6,55	5,08	4,13	4,08	4,03	0,132	0,734	1,481	1,550	1,793	7,53	8,45	7,78
%1 İnülin	6,53	5,84	5,28	4,98	4,60	0,141	0,485	1,115	1,014	1,469	7,17	7,90	7,74
%1 Stevia	6,52	5,84	5,90	5,94	6,05	0,130	0,475	0,377	0,586	0,713	7,17	7,70	7,48
%1 Stevia + %1 İnülin	6,43	5,37	5,19	5,06	4,85	0,143	0,944	0,892	0,816	0,814	7,08	7,70	7,30
%0,025 Stevia	6,49	5,79	5,84	5,90	5,93	0,166	0,390	0,412	0,723	0,794	7,16	8,04	6,48
%0,025 Stevia + %1 İnülin	6,55	5,39	5,37	4,97	4,41	0,122	1,173	1,081	1,244	1,611	7,18	7,90	7,30
Minimum	6,43	5,08	4,13	4,08	4,03	0,122	0,390	0,377	0,544	0,713	7,11	7,85	6,48
Maksimum	6,59	5,95	5,94	5,94	6,05	0,166	1,173	1,481	1,550	1,793	7,18	8,45	7,78
Ortalama	6,52	5,61	5,37	5,26	5,12	0,139	0,683	0,838	0,925	1,178	7,28	8,07	7,27

Buna ek olarak inülin + stevia içeren besi ortamlarında (%0,025 stevia + %1 inülin ve %1 stevia + %1 inülin) fermantasyon gelişiminin stevianın ve prebiyotik özelliği bulunan inülinin tek başına kullanımına göre daha iyi olduğu, daha düşük pH değeri ve daha yüksek OD₆₀₀ değeri ile sonuçlandığı saptanmıştır. Kunová ve ark. (2011) farklı *Lactobacillus* türlerinin gelişimi ve aktivitesini arttıran en etkili substratın inülin olduğunu belirtmişlerdir.

En yüksek pH ve en düşük OD₆₀₀ değerinin karbonhidrat içermeyen kontrol örneğinde ölçülmesinin, substrat ve enerji kaynağı noksanlığı sebebiyle *L. acidophilus*'un yeterince aktivite gösterememesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.4. *L. acidophilus*'un 48 saatlik fermantasyonu süresince besiyeri örneklerinin pH ve OD₆₀₀ değerleri ile *L. acidophilus* sayısı (log₁₀ kob/mL)'na ait LSD testi sonuçları

Besiyeri Çeşidi	N	pH	OD ₆₀₀	<i>L. acidophilus</i> Sayısı (log ₁₀ kob/mL)
Negatif Kontrol	15	6,08 ^a	0,440 ^g	7,24 ^d
%1 Glikoz	15	4,76 ^g	1,142 ^a	7,92 ^a
%1 İnülin	15	5,45 ^d	0,847 ^c	7,61 ^b
%1 Stevia	15	6,05 ^b	0,461 ^f	7,45 ^{bcd}
%1 Stevia + %1 İnülin	15	5,38 ^e	0,721 ^d	7,36 ^{bcd}
%0,025 Stevia	15	5,99 ^c	0,502 ^e	7,26 ^{cd}
%0,025 Stevia + %1 İnülin	15	5,34 ^f	1,047 ^b	7,52 ^{bc}
Fermantasyon Süresi				
0	21	6,52 ^a	0,139 ^e	7,28 ^b
12	21	5,61 ^b	0,683 ^d	-
24	21	5,37 ^c	0,838 ^c	7,93 ^a
36	21	5,26 ^d	0,925 ^b	-
48	21	5,12 ^e	1,178 ^a	7,27 ^b
ANOVA				
Besiyeri Çeşidi (B)	6	**	**	**
Fermantasyon Süresi (F)	4	**	**	**
B x F	24	**	**	**
Hata	70			

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

Besiyeri örneklerinin pH ve OD₆₀₀ değerlerinin fermantasyon süresine ilişkin LSD testi sonuçları (Çizelge 4.4) incelendiğinde fermantasyon süresince ortaya çıkan farklılık

istatistiksel açıdan $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Asitlik gelişimi ve pH değişimine fermantasyon süresinin etkisi incelendiğinde; en yüksek ortalama pH değerinin (6,52) 0. saatte, en düşük pH değerinin (5,12) ise 48. saatte ölçüldüğü; *L. acidophilus*'un gelişiminin fermantasyon süresince arttığı ve buna paralel olarak da pH'nın da azaldığı saptanmıştır.

Besi ortamlarındaki hücre yoğunluğuna bağlı OD₆₀₀ değişimine fermantasyon süresinin etkisi incelendiğinde; en düşük ortalama OD₆₀₀ değerinin (0,139) 0. saatte, en yüksek OD₆₀₀ değerinin (1,178) ise 48. saatte ölçüldüğü görülmüştür. Bununla birlikte fermantasyon süresince *L. acidophilus*'un gelişimi ve hücre yoğunluğu ile doğru orantılı olarak OD₆₀₀ değerinin de arttığı tespit edilmiştir.

L. acidophilus sayısında fermantasyon süresince değişim profilini belirlemek amacıyla uygulanan analiz sonucunda saptanan bakteri sayısı değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Besiyeri örneklerinde *L. acidophilus* sayısı değeri 6,48 log₁₀ kob/mL ile 8,45 log₁₀ kob/mL arasında değişim göstermiş; en yüksek bakteri sayısı 24. saatte, en düşük bakteri sayısı ise fermantasyonun 48. saatinde ölçülmüştür.

Glikoz, inülin ve stevia içeren besiyeri örneklerinde fermantasyon süresince *L. acidophilus* sayısını (log₁₀ kob/mL) belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonuçlarına göre; besiyeri çeşidi ve fermantasyon süresi farklılıkları ile besiyeri çeşidi x fermantasyon süresi interaksyonu istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Çizelge 4.4). Besiyerinde bulunan karbonhidratlar ile diğer bileşenlerin prebiyotik potansiyellerinin ve fermantasyon seyrinin farklı olmasının, *L. acidophilus* gelişimi ve sayısındaki farklılıkla sonuçlandığı düşünülmektedir.

L. acidophilus'un fermantasyon süresince bakteri sayısına ilişkin LSD testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.4) en düşük *L. acidophilus* sayısının (7,24 log₁₀ kob/mL) negatif kontrol; en yüksek *L. acidophilus* sayısının (7,92 log₁₀ kob/mL) ise %1 glikoz içeren örneğe ait olduğu görülmektedir. Elde edilen bulgulara göre stevia içeren tüm besi ortamlarında *L. acidophilus* sayısı yüksek değerlere ulaşmış; stevia katkılı besiyeri örnekleri içerisinde en yüksek bakteri sayısı %0,025 + %1 inülin içeren örnekte saptanmıştır. Stevia katkılı

örneklerde en düşük bakteri sayısı ise yalnızca %0,025 stevia içeren örneğe ait bulunmuş; ulaşılan bu sonuç örnekteki prebiyotik potansiyele sahip olduğu düşünülen stevianın oranının düşük olmasına bağlanmıştır. Örneklerin tümünde en düşük *L. acidophilus* sayısının karbonhidrat içermeyen negatif kontrol örneğinde saptanması, bu besi ortamındaki karbonhidrat yetersizliğinin bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır.

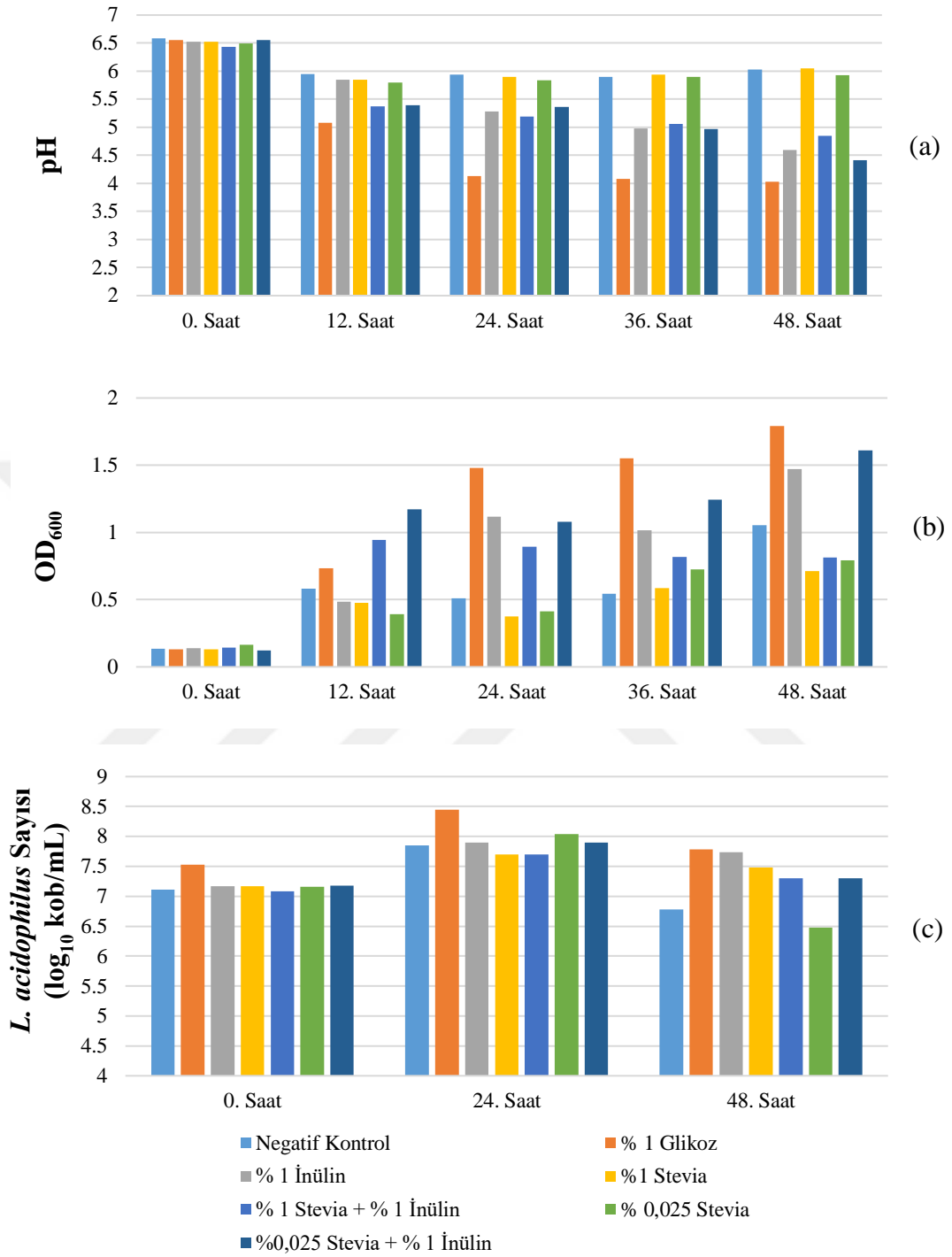
Farklı substrat içeren besi ortamlarında *L. acidophilus* sayısındaki değişime fermantasyon süresinin etkisi incelendiğinde; en düşük ortalama bakteri sayısının (7,28 log₁₀ kob/mL ve 7,27 log₁₀ kob/mL) 0. ve 48. saatte, en yüksek bakteri sayısının (7,93 log₁₀ kob/mL) ise 24. saatte saptandığı görülmüştür. Buna ek olarak *L. acidophilus*'un gelişimi ve hücre sayısının; fermantasyonun 24. saatine kadar arttığı ve bu saatten sonra azaldığı tespit edilmiştir. Fermantasyon sürecinde bakterilerin karbonhidrat kaynaklarını kullanarak gerçekleştirdikleri metabolik faaliyetleri sonucunda çeşitli metabolitlerin oluşması ve bunların fermantasyonu engelleme etkileri sebebiyle bakterilerin 24. ve 48. saatler arasında canlılıklarını sürdüremedikleri düşünülmektedir.

L. acidophilus'un 48 saatlik fermantasyonu süresince besiyeri örneklerinde meydana gelen pH değişimleri, OD₆₀₀ değerleri ve *L. acidophilus* sayıları (log₁₀ kob/mL) şekil 4.2'de verilmiştir.

4.1.3. *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un besiyeri örneklerindeki gelişme oranlarının karşılaştırılması

B. animalis subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un 48 saatlik fermantasyon süresince prebiyotik potansiyeli araştırılan steviayı fermente etme yetenekleri ve bunun sonucunda besiyeri örneklerinde ölçülen pH, OD₆₀₀ değerleri ve bakteri sayısı (log₁₀ kob/mL)'na ait karşılaştırmalı LSD testi sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Besiyeri örneklerinin pH ve OD₆₀₀ değerleri ile probiyotik bakteri sayısının fermantasyon süresince değişimini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizine göre; besiyeri çeşidi ve fermantasyon süresi farklılıkları ile besiyeri çeşidi x fermantasyon süresi interaksyonu istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (p<0,01) (Çizelge 4.5).



Şekil 4.2. Fermantasyon süresince besiyeri örneklerinde pH (a), OD₆₀₀ (b) değerleri ve *L. acidophilus* sayısı (log₁₀ kob/mL) (c)

Çizelge 4.5. *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un 48 saatlik fermantasyon süresince besiyeri örneklerinin pH ve OD₆₀₀ değerleri ile bakteri sayısı (log₁₀ kob/mL)'na ait LSD testi sonuçları

Bakteri Türü	Besiyeri Çeşidi	N	pH	OD ₆₀₀	Bakteri Sayısı (log ₁₀ kob/mL)
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	%1 Stevia	15	5,43 ^d	0,598 ^d	7,24 ^c
	%1 Stevia + %1 İnülin	15	4,74 ^h	0,718 ^c	7,24 ^c
	%0,025 Stevia	15	5,51 ^c	0,544 ^e	7,69 ^a
	%0,025 Stevia + %1 İnülin	15	4,77 ^g	0,956 ^b	7,60 ^{ab}
<i>L. acidophilus</i>	%1 Stevia	15	6,05 ^a	0,461 ^g	7,45 ^{abc}
	%1 Stevia + %1 İnülin	15	5,38 ^e	0,721 ^c	7,36 ^{bc}
	%0,025 Stevia	15	5,99 ^b	0,502 ^f	7,26 ^c
	%0,025 Stevia + %1 İnülin	15	5,34 ^f	1,047 ^a	7,52 ^{abc}
Fermantasyon Süresi					
	0	24	6,33 ^a	0,164 ^e	7,24 ^b
	12	24	5,23 ^b	0,786 ^d	-
	24	24	5,23 ^b	0,823 ^b	7,78 ^a
	36	24	5,15 ^c	0,814 ^c	-
	48	24	5,07 ^d	0,878 ^a	7,24 ^b
ANOVA					
	Besiyeri Çeşidi (B)	7	**	**	**
	Fermantasyon Süresi (F)	4	**	**	**
	B x F	28	**	**	**
	Hata	80			

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

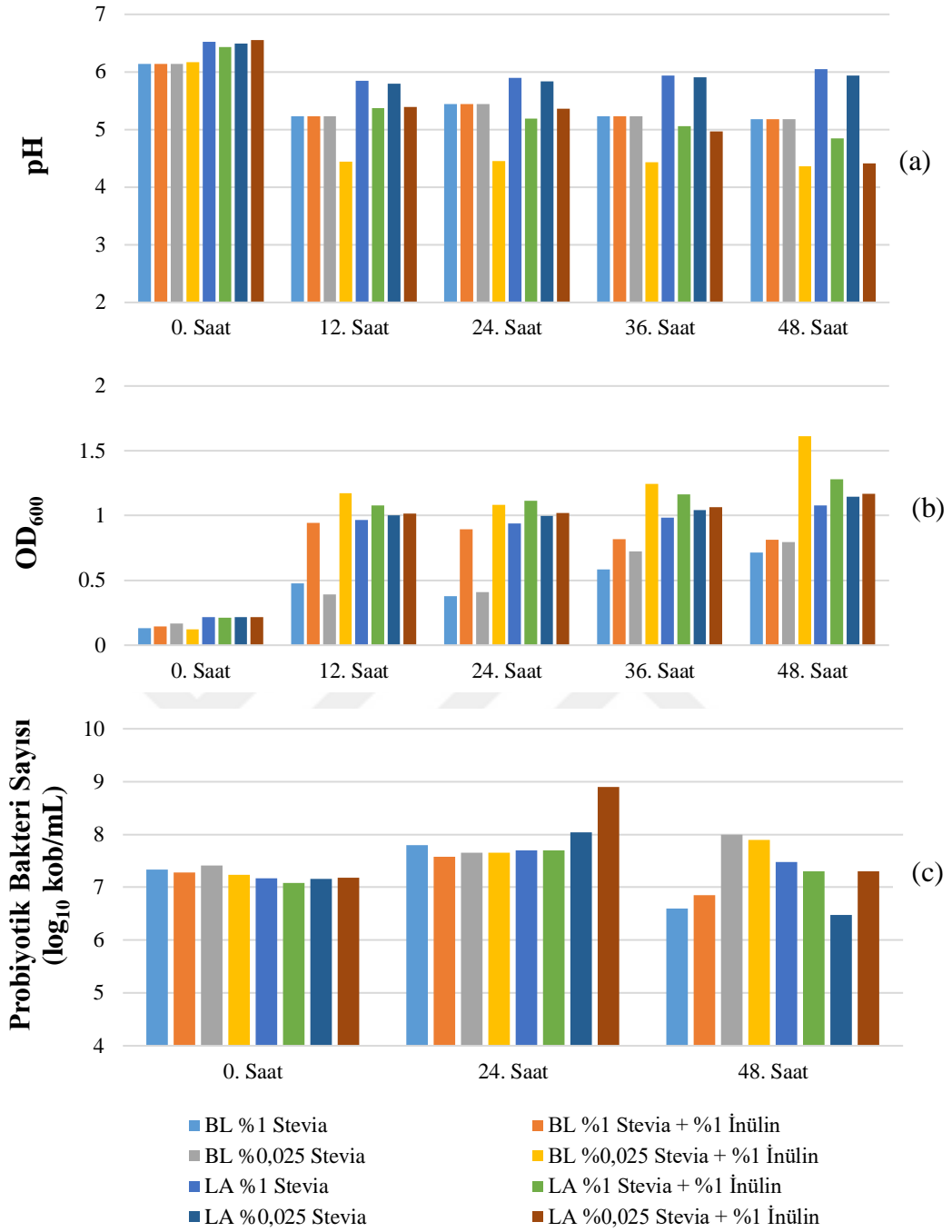
Besiyeri örneklerinin pH ve OD₆₀₀ değerleri ile probiyotik bakterileri sayısına ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Elde edilen bulgular incelendiğinde tüm örneklerin farklı gruba dahil olduğu; en düşük pH değerinin (4,74) *B. animalis* subsp. *lactis* bulunan ve %1 stevia + %1 inülin içeren besiyeri örneğinde tespit edildiği, bunu yine aynı gruptan %0,025 stevia + %1 inülin içeren örneğin takip ettiği sonucuna ulaşılmaktadır. Çizelge 4.5'e göre gruplar kendi içerisinde incelendiğinde stevia + inülin içeren örneklerin yalnızca stevia içeren örneklere göre daha düşük pH değerine sahip olduğu görülmektedir. Besiyeri örneklerinin hücre yoğunluk değerleri incelendiğinde gruplar içerisinde en yüksek değerlerin %0,025 stevia + %1 inülin içeren örneklere ait olduğu, gruplar karşılaştırıldığında ise en yüksek değer *L. acidophilus* bulunduran örneğe ait olduğu görülmektedir. Çizelge 4.5 probiyotik bakteri sayısı açısından değerlendirildiğinde *B. animalis* subsp. *lactis* bulunduran örnek grubundan %0,025 stevia

içeren örneğin en yüksek değere sahip olduğu ve bunu aynı gruptan %0,025 stevia + %1 inülin içeren örneğin takip ettiği sonucuna ulaşılmaktadır.

Besiyeri örneklerinin pH ve OD₆₀₀ değerleri ile probiyotik bakteri sayısının fermantasyon süresine ilişkin LSD testi sonuçları (Çizelge 4.5) incelendiğinde en yüksek ortalama pH değerinin (6,33) 0. saatte, en düşük pH değerinin (5,07) ise fermantasyonun 48. saatinde ölçüldüğü; buna paralel olarak en düşük OD₆₀₀ değerinin (0,164) fermantasyonun 0. saatinde, en yüksek değerin (0,878) ise 48. saatte ölçüldüğü görülmektedir. Fermantasyon süresinin probiyotik bakteri sayısı üzerine etkisine dair bulgulara göre; en yüksek bakteri sayısı (7,78 log₁₀ kob/mL) fermantasyonun 24. saatinde, en düşük bakteri sayısı (7,24 log₁₀ kob/mL) ise 0. ve 48. saatte belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Probiyotik bakteri sayısındaki bu düşüşün, bakteri gelişiminin 24. saate kadar artmasının ardından ortam şartlarının optimizasyonunun bozulmasına ve oluşan metabolitlerin gelişimi inhibe edici etkisine bağlı olarak ileri geldiği düşünülmektedir.

B. animalis subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un fermantasyon süresince meydana gelen pH değişimleri ve OD₆₀₀ değerleri ile probiyotik bakteri sayıları Şekil 4.3'te verilmiştir.

Su ve ark. (2007) bakterilerin gelişme yeteneği ve hücre yoğunluğundaki değişikliğin, besi ortamlarındaki karbon kaynaklarının probiyotik bakteriler tarafından farklı şekilde kullanımlarından kaynaklandığını belirtmektedirler. Goderska ve ark. (2008) farklı karbonhidrat kaynağı içeren besi ortamlarında pH değişimlerinin toplam bakteri sayısı ile korelasyonunun analiz edilmesine ilişkin çalışmalarında, tüm türlerde söz konusu olmasa da pH düşüşünde toplam bakteri sayısındaki artışın etkili olduğunu belirtmişlerdir. Karbonhidrat olmayan ortamda, sakkarit içeren besi ortamlarına kıyasla test edilen tüm bakteriler için daha düşük bakteri sayısının kaydedildiği ifade edilmiştir. Besi ortamına potansiyel prebiyotik substratların ilave edilmesinin hem toplam bakteri sayısını hem de asit oluşturma kapasitelerini önemli ölçüde arttırdığı, *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un karbonhidrat içermeyen besi ortamında fermantasyonu sonucunda ise toplam bakteri sayısının azaldığını saptamışlardır.



(BL: *B. animalis* subsp. *lactis*, LA: *L. acidophilus*)

Fermantasyon Süresi (Saat)

Şekil 4.3. *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un 48 saatlik fermantasyon süresince besiyeri örneklerinde meydana gelen pH, OD₆₀₀ değerleri ve probiyotik bakteri sayıları (log₁₀ kob/mL)

Yapılan araştırmalar, test edilen tüm probiyotik bakteri suşlarının metabolik faaliyetlerde karbon kaynağı olarak fruktooligosakarit niteliğindeki maddeleri kullanabildiklerini ve bu sayede söz konusu substratların gastrointestinal sistemde probiyotik bakteri gelişimine katkıda bulunabileceklerini göstermektedir (Goderska ve ark. 2008). Genel olarak *Lactobacillus* türleri, *Bifidobacterium* türlerine göre oksijene karşı daha toleranslıdır; oksijen seviyesindeki değişim *Lactobacillus* türlerinin canlılığı üzerinde nadiren etkili olmaktadır (Mohammadi ve ark. 2012). Normal şartlar altında, *Bifidobacterium* türleri asidik ortam koşullarına karşı oldukça duyarlı olmasına (Donkor ve ark. 2006, Sanz 2007, Barat ve Ozcan 2018) rağmen, Tamime ve ark. (2005) *B. animalis* subsp. *lactis*' in diğer *Bifidobacterium* türlerine göre düşük pH değerlerine daha toleranslı olduğunu belirtmektedirler.

Olson ve Aryana (2012), *L. acidophilus*'un çeşitli oligosakaritler ve polisakaritleri substrat olarak kullanabileceğini bildirmişlerdir. Farklı *L. acidophilus* suşlarının spesifik büyüme oranlarındaki değişikliklerin, sinbiyotik formülasyonlar hazırlanırken uygun tipte prebiyotiklerin kullanılmasına bağlı olduğuna dikkat çekmektedirler.

4.1.4. Stevianın prebiyotik aktivite skorunun (PAS) belirlenmesi

Kolonda prebiyotikler tarafından stimüle edilen gastrointestinal sistem bakterileri (*Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri vb.) bağırsaktaki patojenlere karşı antagonistik olabilecek KZYA ve diğer metabolitlerin oluşumuyla sonuçlanan prebiyotik substratları metabolize etme yetenekleriyle konakçı sağlığını iyileştirmektedirler. Prebiyotikler, özellikle *Bifidobacterium* spp. tarafından “bifidojenik faktör” olarak tercihen karbon ve enerji kaynağı şeklinde kullanılabilir (Kim ve ark. 2009, Meyer ve Stasse-Wolthuis 2009, Playne ve Crittenden 2009).

Prebiyotik substratlar *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* spp. gibi probiyotik bakterilerce glikoz kadar iyi derecede metabolize edebilmektedir. Prebiyotiklerin etkinliğinin değerlendirilmesinde; prebiyotik substrat ortamdaki probiyotik bakteri sayısını terapötik seviyede arttırmakta ise; pozitif prebiyotik aktivite, *Enterococcus* türleri gibi patojenik mikroorganizmalarca glikoz kadar iyi derecede metabolize edilmekte ve onların gelişimini teşvik etmekte ise; negatif prebiyotik aktivite söz konusu olmaktadır.

Prebiyotik aktivite sayısı (PAS), bir mikroorganizmanın gelişimini destekleyen substratın diğer mikroorganizmaların gelişimi üzerine etkisi ile glikoz gibi prebiyotik olmayan substratlarda mikroorganizma gelişiminin logaritmik ya da hücre yoğunluğu konsantrasyonunun karşılaştırılması olarak tanımlanmaktadır (Huebner ve ark. 2007, Anprung ve Sangthawan 2012).

Stevianın prebiyotik etkinliğinin belirlenmesi amacıyla *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* fermantasyonunun 0. ve 24. saatinde besiyeri örneklerinin 600 nm’de ölçülen absorbans değerleri kullanılmış; PAS, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$PAS = \frac{[(\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{24 \text{ Prebiyotik OD}_{600}}) - (\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{0 \text{ Prebiyotik OD}_{600}})]}{[(\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{24 \text{ Glikoz OD}_{600}}) - (\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{0 \text{ Glikoz OD}_{600}})]} \cdot \frac{[(\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{24 \text{ Glikoz OD}_{600}}) - (\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{0 \text{ Glikoz OD}_{600}})]}{[(\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{24 \text{ Prebiyotik OD}_{600}}) - (\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{0 \text{ Prebiyotik OD}_{600}})]}$$

Stevianın prebiyotik etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla besiyeri örneklerine uygulanan analiz sonucunda elde edilen ortalama PAS değerleri Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*’un %1 stevia katkılı besiyeri örneklerindeki PAS değerleri

Besiyeri Çeşidi	PAS
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	0,67
<i>L. acidophilus</i>	0,57

%1 oranında stevia içeren besi ortamında *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* türünün PAS değerlerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde besiyeri örneklerinin PAS değerlerindeki bakteri türüne göre farklılıklar istatistiksel açıdan $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Probiyotik bakterilerin farklı PAS değerlerine sahip olması, bakterilerin türlerinin farklı olmasına bağlı olarak metabolizma ve aktivitelerinin değişiklik göstermesi ile açıklanabilmektedir. Bu sonuçlardan yola çıkılarak farklı bakteri suşlarının farklı prebiyotik aktivite skorları sergilemesinin ilgili suşların metabolik kapasitelerindeki farklılıklar nedeniyle ortaya çıktığı ve bu bakteriler tarafından

prebiyotiklerin kullanılabilmesinin spesifik hidroliz ve taşıma sistemlerinin varlığını gerektirdiği sonucuna ulaşılabilmektedir.

Çizelge 4.7. *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un %1 stevia katkılı besiyeri örneklerindeki PAS değerlerine ait LSD testi

Bakteri Çeşidi	N	PAS
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	2	0,67 ^a
<i>L. acidophilus</i>	2	0,57 ^b
ANOVA		
Bakteri Çeşidi	3	**
Hata	4	

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

B. animalis subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un %1 stevia içeren örneklerdeki PAS değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiş; elde edilen sonuçlara göre her iki örnek de istatistiki olarak farklı gruplara dahil olmuştur.

Huebner ve ark. (2007), on adet probiyotik suşa karşı beş ticari prebiyotiği test etmiş; kullanılan suşların çoğu için prebiyotiklerin varlığındaki büyümenin glikoz varlığındaki büyümeden daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, çalışmalar *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsi bakterilerin prebiyotik karbonhidratları fermente etme kabiliyetinin hem suşa hem de substrata özgü olduğunu göstermiştir (Kaplan ve Hutkins 2000).

Huebner ve ark. (2008) prebiyotik aktivite üzerine işleme koşullarının etkisini araştırdıkları çalışmada ticari probiyotik olarak kullanılan FOS ve inülin için saptanan değerlerin 0,19 ile 0,49 arasında değişim gösterdiğini ifade etmişlerdir. Thuaytong ve Anprung (2011) beyaz ve kırmızı guava içeren besi ortamlarında PAS değerini *L. acidophilus* LA-5 için sırasıyla 0,12 ve 0,13; *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 için ise 0,28 ve 0,29 olarak belirlemişlerdir. Çalışmada saptanan PAS değerleri mevcut çalışmaların sonuçları ile benzer olmakla birlikte, kullanılan substratların potansiyel prebiyotik olarak kullanılmasına imkan verecek düzeyde yüksek bulunmuştur.

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

Prebiyotiklerin etkileri, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* spp. gibi probiyotik bakteriler için substrat görevi görerek mikrobiyota bileşimini olumlu yönde değiştirme kapasiteleri ile belirlenmektedir. Belirtilen olumlu fizyolojik etkinin çoğunlukla laktik asit ve KZYA (asetik asit + propiyonik asit + bütirik asit) kaynaklı olduğu düşünülmekte; KZYA profili, substrat yapısı ve probiyotik bakteri türüne bağlı olarak değişen oranlarda asetik, propiyonik ve bütirik asidi içermektedir. Belirli bir zamanda mikrobiyota tarafından üretilen KZYA miktarları hesaplanarak probiyotik substratın kullanılabilirliği belirlenmektedir (Cardarelli ve ark. 2007, Kotancılar ve ark. 2009, Tsai ve ark. 2016, Rowland ve ark. 2018).

B. animalis subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermentasyon süresi sonunda besiyeri örneklerinin laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit (g/L) değişim profilini belirlemek amacıyla uygulanan analiz sonucunda elde edilen değerler Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. *B. animalis* subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermentasyon süresi sonunda besiyeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarları (g/L)

Besiyeri Çeşidi	Laktik Asit (g/L)	Asetik Asit (g/L)	Propiyonik Asit (g/L)	Bütirik Asit (g/L)
%1 Glikoz	3,069	0,453	0,001	0,015
%1 İnülin	1,701	0,298	0,001	0,003
%1 Stevia	1,408	0,040	0,007	0,031
%1 Stevia + %1 İnülin	1,548	0,126	0,011	0,002
%0,025 Stevia	1,255	0,058	0,012	0,004
%0,025 Stevia + %1 İnülin	1,150	0,242	0,004	0,010
Minimum	1,150	0,040	0,001	0,002
Maksimum	3,069	0,453	0,012	0,031
Ortalama	1,689	0,203	0,006	0,011

B. animalis subsp. *lactis* içeren besiyeri örneklerinde belirlenen laktik asit miktarı 1,150 g/L ile 3,069 g/L; asetik asit miktarı 0,040 g/L ile 0,453 g/L; propiyonik asit miktarı 0,001g/L ile 0,012 g/L; bütirik asit miktarı ise 0,002 g/L ile 0,031 g/L arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.8).

B. animalis subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerinin laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarlarının belirlenmesi için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre; besiyeri çeşidi farklılıkları laktik, asetik ve bütirik asit miktarları için istatistiksel açıdan $p<0,01$ düzeyinde; propiyonik asit miktarı için $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.9). Besi ortamında bulunan fermente edilebilir bileşenler ve konsantrasyonlarındaki farklılıkların, metabolit profilinde değişikliklere yol açtığı; bu nedenle örnekler arasında farklılıklar ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.9. *B. animalis* subsp. *lactis*'in 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik, bütirik asit miktarlarına (g/L) ait LSD testi sonuçları

Besiyeri Çeşidi	N	Laktik Asit (g/L)	Asetik Asit (g/L)	Propiyonik Asit (g/L)	Bütirik Asit (g/L)
%1 Glikoz	2	3,069 ^a	0,453 ^a	0,001 ^c	0,015 ^b
%1 İnülin	2	1,701 ^b	0,298 ^b	0,001 ^c	0,003 ^d
%1 Stevia	2	1,408 ^d	0,040 ^e	0,007 ^b	0,031 ^a
%1 Stevia + %1 İnülin	2	1,548 ^c	0,126 ^d	0,011 ^a	0,002 ^d
%0,025 Stevia	2	1,255 ^e	0,058 ^e	0,012 ^a	0,004 ^d
%0,025 Stevia + %1 İnülin	2	1,150 ^f	0,242 ^c	0,004 ^{bc}	0,010 ^c
ANOVA					
Besiyeri Çeşidi	6	**	**	*	**
Hata	7				

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

Besiyeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarlarına ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir. Elde edilen verilere göre en yüksek laktik asit miktarı (3,069 g/L) ve en yüksek asetik asit miktarı (0,453 g/L) %1 glikoz içeren örnekte, en yüksek propiyonik asit miktarı (0,012 g/L ve 0,011 g/L) %0,025 stevia ve %1 stevia + %1 inülin içeren örneklerde, en yüksek bütirik asit miktarı (0,031 g/L) ise %1 stevia örneğinde belirlenmiştir. Analiz sonuçları incelendiğinde genel olarak glikoz, inülin ve stevia ilavesinin laktik asit ve KZYA üretimini teşvik ettiği; stevia ilavesinin glikoz ve bifidojenik faktör olan inüline göre daha yüksek miktarda propiyonik asit oluşumuna sebep olduğu görülmektedir. Bulgular incelendiğinde *B. animalis* subsp. *lactis* tarafından

üretilen toplam KZYA içerisinde en yüksek pay asetik aside ait bulunmakta, bütirik asit ise ikinci sırada yer almaktadır (Çizelge 4.9) (Çizelge 4.12).

Marx ve ark. (2000), prebiyotik substrat olarak kullanılan β -(2,6)-FOS'un farklı *Bifidobacterium* türleri tarafından metabolize edilmesini inceledikleri çalışmalarında; laktik ve asetik asit oranlarının substrat konsantrasyonu ve türlere göre belirgin şekilde değiştiği sonucuna ulaşmışlardır. Toplam KZYA, karbon kaynağı olarak fruktozun kullanıldığı pozitif kontrol örneğinde daha yüksek bulunmuş ancak, β -(2,6)-FOS içeren tüm örneklerde laktik ve asetik asit miktarı belirgin bir şekilde artmıştır.

L. acidophilus'un 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerinin laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit (g/L) değişim profilini belirlemek amacıyla uygulanan analiz sonucunda elde edilen değerler Çizelge 4.10'da verilmiştir.

L. acidophilus içeren besiyeri örneklerinde saptanan laktik asit miktarı 1,695 g/L ile 4,738 g/L; asetik asit miktarı 0,069 g/L ile 2,243 g/L; propiyonik asit miktarı 0,004 g/L ile 0,011 g/L; bütirik asit miktarı ise 0,005 g/L ile 0,026 g/L arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. *L. acidophilus*'un 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarları (g/L)

Besiyeri Çeşidi	Laktik Asit (g/L)	Asetik Asit (g/L)	Propiyonik Asit (g/L)	Bütirik Asit (g/L)
%1 Glikoz	4,738	2,243	0,011	0,007
%1 İnülin	1,779	0,731	0,010	0,008
%1 Stevia	2,151	0,080	0,009	0,015
%1 Stevia + %1 İnülin	1,695	0,574	0,011	0,006
%0,025 Stevia	2,578	0,069	0,004	0,026
%0,025 Stevia + %1 İnülin	2,292	0,982	0,007	0,005
Minimum	1,695	0,069	0,004	0,005
Maksimum	4,738	2,243	0,011	0,026
Ortalama	2,539	0,780	0,009	0,011

Deneme desenine göre hazırlanan besiyeri örneklerinde *L. acidophilus*'un 48 saatlik fermantasyonu sonunda üretilen laktik asit ve KZYA miktarlarına ilişkin varyans analizi

sonuçlarına göre; besiyeri çeşidi farklılıkları laktik, asetik ve bütirik asit miktarları için istatistiksel açıdan $p < 0,01$ düzeyinde; propiyonik asit miktarları için $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.11). Örnekler arasındaki farklılığın deneme deseninde belirtildiği gibi besi ortamlarında bulunan farklı substratların, fermantasyonu ve oluşan metabolitleri şekillendirmesiyle ilgili olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.11. *L. acidophilus*'un 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarlarına (g/L) ait LSD testi sonuçları

Besiyeri Çeşidi	N	Laktik Asit (g/L)	Asetik Asit (g/L)	Propiyonik Asit (g/L)	Bütirik Asit (g/L)
% 1 Glikoz	2	4,738 ^a	2,243 ^a	0,011 ^a	0,007 ^b
% 1 İnülin	2	1,779 ^e	0,731 ^c	0,010 ^a	0,008 ^b
% 1 Stevia	2	2,151 ^d	0,080 ^{fe}	0,009 ^a	0,015 ^{ab}
% 1 Stevia + % 1 İnülin	2	1,695 ^f	0,574 ^d	0,011 ^a	0,006 ^b
% 0,025 Stevia	2	2,578 ^b	0,069 ^{fe}	0,004 ^a	0,026 ^a
% 0,025 Stevia + % 1 İnülin	2	2,292 ^c	0,982 ^b	0,007 ^a	0,005 ^b
ANOVA					
Besiyeri Çeşidi	6	**	**	*	**
Hata	7				

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

48 saatlik fermantasyon sonunda *L. acidophilus*'un bulunduğu besiyeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarlarına ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.11'de yer almaktadır. Bulgulara göre en yüksek laktik asit (4,738 g/L) ve asetik asit (2,243 g/L) miktarı % 1 glikoz içeren örnekte; en yüksek bütirik asit miktarı (0,026 g/L) ise % 0,025 stevia içeren örnekte ölçülürken, propiyonik asit miktarlarının tüm örneklerde aynı seviyede olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.11 incelendiğinde *L. acidophilus* bulunan besi ortamlarında glikoz ve stevia ilavesinin laktik asit ve KZYA üretimini stimüle ettiği; % 0,025 stevia varlığının laktik ve bütirik asit miktarını, % 0,025 stevia + % 1 inülin varlığının ise asetik asit miktarını arttırdığı görülmektedir. *L. acidophilus* tarafından üretilen toplam KZYA, büyük oranda asetik asitten oluşurken daha düşük oranlarda propiyonik ve bütirik asit içermektedir (Çizelge 4.11) (Çizelge 4.12). Yu ve ark. (2015) *L. plantarum* suşlarını kullanarak mısır koçanından elde edilen XOS'un prebiyotik aktivitesini değerlendirdikleri çalışmalarında, tüm örneklerde değişen fakat yüksek

miktarlarda laktik ve asetik asit ile daha düşük miktarlarda propiyonik ve bütirik asit saptandığını bildirmişlerdir.

B. animalis subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un 48 saatlik fermantasyonu sonunda stevia katkılı besi ortamlarında üretilen laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarlarına ait karşılaştırmalı LSD testi sonuçları Çizelge 4.12'de verilmiştir. Besiyeri örneklerinin laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarlarındaki değişimini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizine göre; besiyeri çeşidi farklılıkları istatistiksel açıdan $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.12).

B. animalis subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerinin laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarlarına ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.12'de verilmiştir. Elde edilen verilere göre en yüksek laktik ve asetik asit miktarı *L. acidophilus* bulunan besi ortamlarında; sırasıyla %0,025 stevia içeren ve %0,025 stevia + %1 inülin içeren örneklerde tespit edilmiştir. Her iki bakteri grubunda da inülin ilavesinin propiyonik asit miktarını az da olsa arttırdığı belirlenmiştir. En yüksek bütirik asit miktarı *B. animalis* subsp. *lactis* varlığında %1 stevia içeren örnekte ve *L. acidophilus* varlığında %0,025 stevia içeren ortamda ölçülmüştür. Genel olarak stevia katkılı *L. acidophilus* içeren örneklerin, *B. animalis* subsp. *lactis* içeren örneklerden daha yüksek miktarda toplam KZYA içerdiği; stevia içeren örnekler kendi arasında karşılaştırıldığında ise %0,025 stevia + %1 inülin varlığında daha fazla toplam KZYA üretiminin gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Araştırmalar, bazı bitkisel karbon kaynaklarının probiyotiklerin gelişimini teşvik ederek KZYA üretimini destekleyebildiğini ancak, bitkisel substratların KZYA üretimi üzerindeki etkilerinin doza bağlı olarak değişim gösterebildiğini ifade etmektedir (Chen ve ark. 2012, Singdevsachan ve ark. 2016, Yang ve ark. 2018). *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri kullanılarak, buğday dekstrini ve kısmen hidrolize guar gaminin prebiyotik etkilerinin araştırıldığı çalışmada 24 saatlik fermantasyon süresince her iki örnekte de asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarlarının kademeli olarak arttığı ancak buğday dekstrini varlığında daha az toplam KZYA üretildiği belirtilmiştir (Carlson ve ark. 2015).

Fernando ve ark. (2018) *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *B. longum* ve *B. breve* türleri tarafından pirinç lifi varlığında üretilen KZYA miktarının bütün kombinasyonlar için asetat > propiyonat \geq bütirat şeklinde olduğunu; 24 saatlik fermantasyon süresince asetik asit oluşumu artarken, propiyonik ve bütirik asit miktarının azaldığını bildirmişlerdir. Düşük propiyonik ve bütirik asit seviyesinin, mikroorganizmaların hayatta kalmaları için bir enerji kaynağı olarak propiyonik ve bütirik asit kullanmış olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Ek olarak, düşük propiyonik ve bütirik asit oluşumunun kullanılan suşların özellikleri ve substratların içerdiği şekerlerin farklı bileşime sahip olmasından kaynaklanabileceği de araştırmacılar tarafından belirtilmiştir.

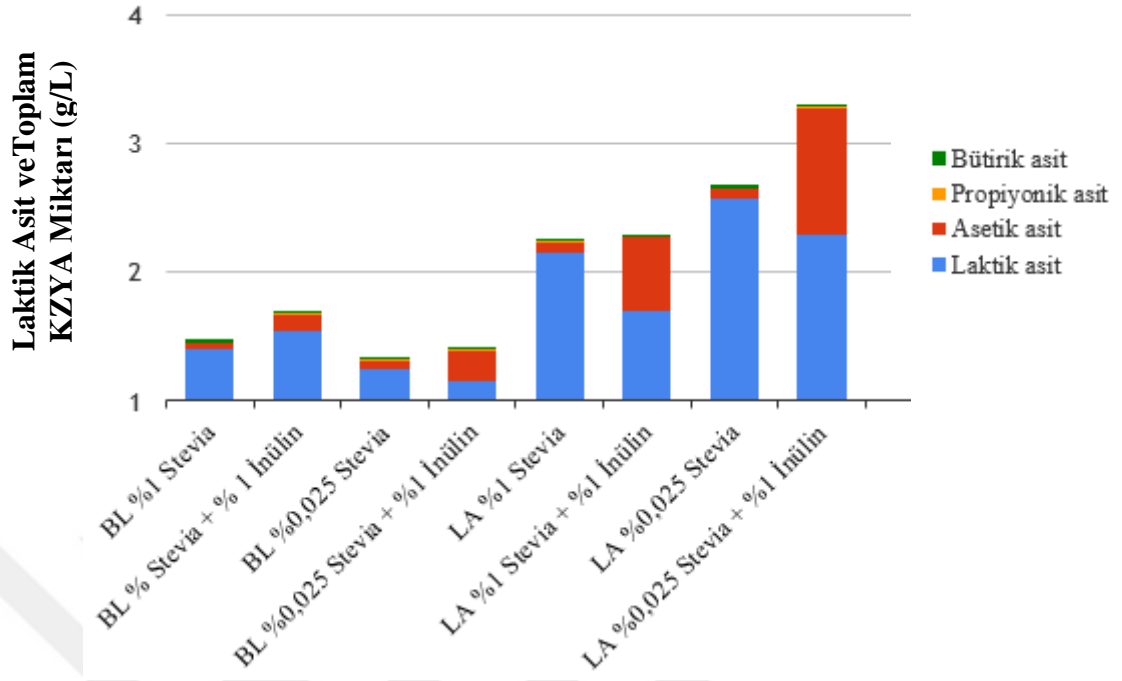
Çizelge 4.12. *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda stevia içeren besiyeri örneklerindeki laktik, asetik, propiyonik, bütirik asit ve toplam KZYA miktarlarına (g/L) ait LSD testi sonuçları

Bakteri Türü	Besiyeri Çeşidi	N	Laktik Asit (g/L)	Asetik Asit (g/L)	Propiyonik Asit (g/L)	Bütirik Asit (g/L)	Toplam KZYA ⁺
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	%1 Stevia	2	1,408 ^f	0,040 ^f	0,007 ^{ab}	0,031 ^a	0,078 ^f
	%1 Stevia + %1 İnülin	2	1,548 ^e	0,126 ^d	0,011 ^{ab}	0,002 ^c	0,139 ^d
	%0,025 Stevia	2	1,255 ^g	0,058 ^{ef}	0,012 ^a	0,004 ^c	0,074 ^f
	%0,025 Stevia + %1 İnülin	2	1,150 ^b	0,242 ^c	0,004 ^b	0,010 ^{bc}	0,256 ^c
<i>L. acidophilus</i>	%1 Stevia	2	2,151 ^c	0,080 ^e	0,009 ^{ab}	0,015 ^b	0,104 ^e
	%1 Stevia + %1 İnülin	2	1,695 ^d	0,574 ^b	0,011 ^{ab}	0,006 ^{bc}	0,591 ^b
	%0,025 Stevia	2	2,578 ^a	0,069 ^{ef}	0,004 ^b	0,026 ^a	0,099 ^{ef}
	%0,025 Stevia + %1 İnülin	2	2,292 ^b	0,982 ^a	0,004 ^b	0,005 ^c	0,994 ^a
ANOVA							
	Besiyeri Çeşidi	7	**	**	ns	**	**
	Hata	8					

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

⁺Toplam KZYA: Asetik Asit + Propiyonik Asit + Bütirik Asit

B. animalis subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerinde meydana gelen laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarları Şekil 4.4'te verilmiştir.



(BL: *B. animalis* subsp. *lactis*, LA: *L. acidophilus*)

Şekil 4.4. *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda besiyeri örneklerinde meydana gelen laktik asit ve toplam KZYA miktarları (g/L) + (+ Toplam KZYA: Asetik asit + Propiyonik Asit + Bütirik Asit)

4.2. Stevia içeren yoğurtların özelliklerinin belirlenmesi

4.2.1. Stevia içeren yoğurtların mikrobiyolojik özellikleri

Probiyotik süt ürünleri tüketilinceye kadar içerdikleri probiyotik mikroorganizmaların canlı kalabilmesi bu mikroorganizmaların spesifik bir özelliğidir. Probiyotik üründe, probiyotik mikroorganizmalar minimum 10^6 kob/g ve kabul edilebilir düzeyde ise 10^7 - 10^8 kob/g seviyesinde bulunmalıdır (Lourens-Hattingh ve Viljoen 2001, Barat ve Ozcan 2018). Yapılan çalışmada yoğurt örneklerinde canlı hücre sayısı açısından stevianın probiyotik etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla depolamanın 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerinde L, LS, LSİ, B, BS ve BSİ örnek gruplarında *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* sayıları belirlenmiştir. Mikrobiyolojik analiz sonucunda yoğurt örneklerinde belirlenen probiyotik bakteri sayıları Çizelge 4.13'te verilmiştir. Söz konusu probiyotik bakteri sayıları $7,56 \log_{10}$ kob/g ile $9,00 \log_{10}$ kob/g arasında değişim göstermiştir.

Çizelge 4.13. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerindeki probiyotik bakteri sayısı (\log_{10} kob/g) değişimi

Yoğurt Çeşidi	Depolama Süresi (Gün)				
	1	7	14	21	28
L	8,82	8,86	8,85	8,37	8,36
LS	9,00	8,87	8,78	8,61	8,65
LSİ	8,65	8,95	8,83	8,77	8,72
B	8,21	8,70	8,54	8,43	7,60
BS	8,26	8,23	8,51	8,69	7,56
BSİ	8,53	8,97	8,35	8,04	8,02
Minimum	8,21	8,23	8,35	8,04	7,56
Maksimum	9,00	8,97	8,85	8,77	8,72
Ortalama	8,58	8,76	8,64	8,48	8,15

Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerindeki probiyotik bakteri sayılarına ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.14'te verilmiştir. Varyans analizi sonuçları incelendiğinde; yoğurt çeşidi ve depolama süresi farklılıkları ile yoğurt çeşidi x depolama süresi interaksyonunun istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmektedir ($p < 0,01$) (Çizelge 4.14). Yoğurt örneklerinin probiyotik bakteri sayılarındaki bu değişikliğin kültür olarak kullanılan *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* türünün gelişme faktörleri ve metabolik aktivitelerindeki farklılık ile örneklerin bileşimlerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerindeki probiyotik bakteri sayısı değişimine ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.14'te verilmiştir. Yoğurt örneklerinde en yüksek probiyotik bakteri sayısı L, LS ve LSİ örneğinde saptanırken; *B. animalis* subsp. *lactis* içeren örneklerde ise daha düşük düzeyde probiyotik bakteri belirlenmiştir.

Bifidobacterium türleri, anaerobik yapıları nedeniyle oksijen hasarına karşı *L. acidophilus*'a göre daha hassastırlar. Bu nedenle *Lactobacillus* türlerinin canlılığını sürdürmesinde oksijen seviyeleri nadiren kritik olmaktadır. *B. animalis* subsp. *lactis* ise fermente süt ürünlerinden izole edilen *Bifidobacterium* türleri arasında oksijene orta derecede tolerans gösteren bir türdür (Talwalkar ve Kailasapathy 2004). Donkor ve ark. (2006) *Bifidobacterium* türlerinin normal koşullarda asidik ve düşük pH'lı ortama yüksek

duyarlılık göstermesine rağmen bu özelliğin bakterisi suşuna bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini belirtmektedir. Ayrıca *Bifidobacterium* türlerinin düşük depolama sıcaklıklarına duyarlı olduğu da ifade edilmektedir (Korbekandi ve ark. 2011).

Çizelge 4.14. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerindeki probiyotik bakteri sayısına (\log_{10} kob/g) ait LSD testi sonuçları

Yoğurt Çeşidi	N	Bakteri Sayısı (\log_{10} kob/g)
L	10	8,65 ^a
LS	10	8,78 ^a
LSİ	10	8,78 ^a
B	10	8,30 ^b
BS	10	8,31 ^b
BSİ	10	8,38 ^b
Depolama Süresi		
1	12	8,58 ^{bc}
7	12	8,76 ^a
14	12	8,64 ^b
21	12	8,48 ^{bc}
28	12	8,15 ^d
ANOVA		
Örnek	5	**
Depolama Süresi	4	**
Örnek x Depolama Süresi	20	**
Hata	30	

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

Yapılan çalışmalara ait verilerden yola çıkılarak depolama süresince ortamdaki oksijen miktarı ve pH değişimi ile depolama sıcaklığının *B. animalis* subsp. *lactis* gelişimini *L. acidophilus*'a göre daha fazla baskılayarak bakteri sayısındaki artışı kontrol altına aldığı söylenebilmektedir. Elde edilen bulgular incelendiğinde stevia ve stevia + inülin (LS, LSİ, BS, BSİ) katkılı örneklerdeki bakteri sayısının kontrol örneklerine (L, B) göre az da olsa daha yüksek olduğu; stevia ilavesinin probiyotik bakteri gelişimini teşvik ettiği sonucuna ulaşılmıştır.

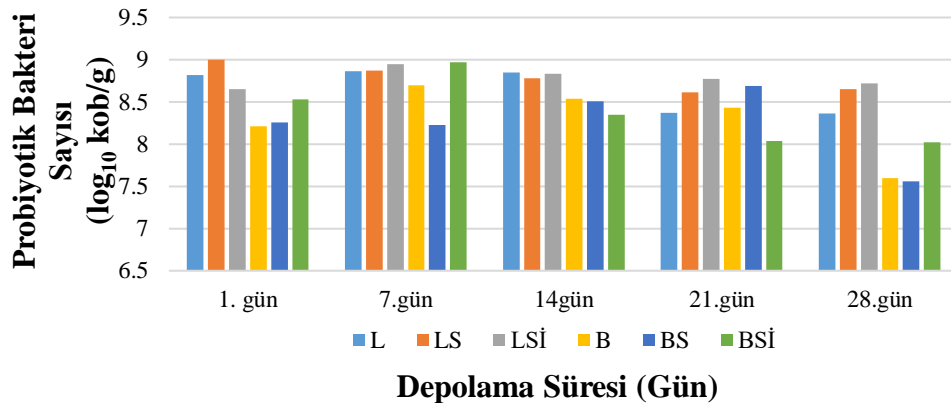
Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerindeki probiyotik bakteri sayısının depolama süresine ait LSD testi sonuçlarına göre en yüksek probiyotik bakteri

sayısı 8,76 log₁₀ kob/g ile 7. günde; en düşük probiyotik bakteri sayısı ise 8,15 log₁₀ kob/g ile 28. günde saptanmıştır (Çizelge 4.14). Buna ek olarak 28 günlük depolama 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.

Gıda işleme prosesi ve depolama esnasında; pH, oksidatif stres ve depolama sıcaklığı gibi probiyotiklerin hayatta kalmasını etkileyen birçok faktör bulunmaktadır (Tian ve ark. 2015). Buna ek olarak, potansiyel terapötik etkinin görülebilmesi için tüketilen probiyotik bakterilerin büyük çoğunluğunun gastrointestinal sistemden geçişleri sırasında yararlı etki gösterdikleri hedef bölgelere ulaşana kadar canlılığını koruması, özelliklerini kaybetmeden stabil kalması önemlidir (Doherty ve ark. 2012).

Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerindeki probiyotik bakteri sayısının depolamanın 7. gününe kadar artış gösterdiği, 28. günde ise azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.14). Bu durumun; bakterilerin depolamanın ilk 7 gününde mevcut optimum şartlarda gelişme ve aktivite göstermesi sonucu asitliğin artması, ambalaj materyalinin oksijen geçirgenliğine bağlı olarak oksijen miktarının değişmesi, oluşan metabolitlerin bakteri gelişimini baskılamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Şekil 4.5'te depolama süresi boyunca kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerindeki probiyotik bakteri sayısının değişim profili verilmiştir.



Şekil 4.5. Depolama süresi boyunca kontrol ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerindeki probiyotik bakteri sayısının (log₁₀ kob/g) değişimi

4.2.2. Stevia içeren yoğurtların fizikokimyasal özellikleri

Yoğurt jelinin oluşumunda pH ve asitlik önemli bir faktör olup, kullanılan starter kültürler ve probiyotik bakterilerin fermantasyonu sonucunda laktozdan laktik asit meydana gelmekte ve buna bağlı olarak da pH sürekli azalmaktadır. pH'nın kazeinin pıhtılaşma noktasına ulaşmasıyla da yoğurdun jel yapısı meydana gelmektedir (Donkor ve ark. 2006).

Genel olarak yoğurdun asitlik değeri laktozun fermantasyonu sonucu oluşan laktik asit cinsinden ifade edilmektedir. Yoğurt üretiminde asitlik gelişimi, pıhtı yapısının oluşması ile konsistensin sağlanması, duyuşal karakteristikler ve aromanın oluşumu, raf ömrünün uzaması açısından önem taşımaktadır. Fermantasyon sırasında bakterilerin sahip olduğu yüksek metabolik aktivite soğutma ve depolama sürecinde azalmakta ancak enzimatik faaliyetler devam etmektedir. Bu nedenle de depolama süresi boyunca laktik asit miktarında artış meydana gelebilmekte; yoğurdun fizikokimyasal, tekstürel ve duyuşal özellikleri değişebilmektedir (Athanasiadis ve ark. 2004, Playne ve Crittenden 2009).

Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerleri Çizelge 4.15'te verilmiştir. Yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerleri %0,63 ile %0,89 arasında değişim göstermiş; en düşük asitlik değeri depolamanın 7. gününde, en yüksek asitlik değeri ise 28. gününde ölçülmüştür (Çizelge 4.15). Yoğurt örneklerinde ölçülen titrasyon asitliği değerlerinin tamamı, Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde belirtilen titrasyon asitliği (laktik asit olarak ağırlıkça, %) değerlerine (%0,60-1,50) uygun bulunmuştur.

Depolama süresince örneklerdeki titrasyon asitliği değişimine dair yapılan varyans analizi sonucunda ise; yoğurt çeşidi, depolama süresi farklılıkları ile yoğurt çeşidi x depolama süresi interaksyonu istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Çizelge 4.16).

Probiyotik yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.16'da verilmiştir. Yoğurt örneklerinde en yüksek titrasyon asitliği değeri (%0,87 ve %0,86) L ve LS örneğinde; en düşük asitlik değeri ise (%0,69) BS örneğinde

saptanmıştır. Probiyotik yoğurt örneklerinin asitlik ve buna bağlı olarak pH değerleri arasındaki farklılığın, probiyotik kültürlerin türe ve bileşime bağlı olarak farklı aktivite göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Elde edilen verilen incelendiğinde bakteri gelişiminde olduğu gibi, *L. acidophilus*'un kültür olarak kullanıldığı örnek gruplarında, *B. animalis* subsp. *lactis* kullanılarak üretilen yoğurtlara göre asitliğin daha fazla geliştiği görülmektedir.

Çizelge 4.15. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinde titrasyon asitliği (%) ve serum ayrılması (ml/25g) değerleri

Yoğurt Çeşidi	Titrasyon asitliği (%)					Serum ayrılması (mL/25g)				
	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
L	0,85	0,88	0,84	0,87	0,89	1,30	1,22	1,22	1,25	1,12
LS	0,85	0,85	0,87	0,87	0,87	1,15	1,22	1,15	1,17	1,12
LSİ	0,81	0,87	0,87	0,84	0,86	1,23	1,22	1,22	1,18	1,15
B	0,73	0,71	0,68	0,68	0,73	1,18	1,15	1,10	1,12	1,12
BS	0,75	0,67	0,65	0,68	0,71	1,13	1,13	1,02	1,15	1,12
BSİ	0,83	0,63	0,65	0,68	0,70	1,05	1,07	0,92	0,98	1,00
Minimum	0,73	0,63	0,65	0,68	0,70	1,05	1,07	0,92	0,98	1,00
Maksimum	0,85	0,88	0,87	0,87	0,89	1,30	1,22	1,22	1,25	1,15
Ortalama	0,80	0,77	0,76	0,77	0,79	1,18	1,17	1,12	1,13	1,11

Yoğurt örneklerinde depolama süresince en düşük titrasyon asitliği (%0,76) 14. günde, en yüksek titrasyon asitliği (%0,80) ise 1. günde saptanmıştır. Probiyotik yoğurt oluşumu sırasında kültür olarak kullanılan bakteriler çok yüksek bir metabolik aktiviteye sahiptir ve soğutma sonrasında enzimatik aktivite devam etmesine rağmen yavaşlamaktadır. Bu nedenle, inkübasyonun tamamlanmasından sonra depolama sırasında yoğurttaki laktik asit miktarında bir artış meydana gelmektedir (Akin ve Ozcan 2017).

Serum ayrılması, yoğurtlarda dıştan gelen önemli bir etki olmaksızın jel fazının zayıflaması sonucu meydana gelen su ya da serum olarak tanımlanmakta; yoğurttaki pıhtı stabilitesinin özelliğinin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Buna ek olarak yoğurtların depolama süresi boyunca gelişerek ürün kabul edilebilirliğini azaltan bir hata olarak değerlendirilmektedir (Lucey 2001, Salvador ve Fiszman 2004).

Çizelge 4.16. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinde titrasyon asitliği (%) ve serum ayrılması (ml/25g) miktarına ait LSD testi sonuçları

Yoğurt Çeşidi	N	Titrasyon Asitliği (%)	Serum Ayrılması (mL/25g)
L	15	0,87 ^a	1,22 ^a
LS	15	0,86 ^a	1,16 ^{bc}
LSİ	15	0,85 ^b	1,20 ^{ab}
B	15	0,71 ^c	1,13 ^{cd}
BS	15	0,69 ^d	1,10 ^d
BSİ	15	0,70 ^{cd}	1,01 ^e
Depolama Süresi (Gün)			
1	18	0,80 ^a	1,18 ^a
7	18	0,77 ^c	1,17 ^{ab}
14	18	0,76 ^d	1,12 ^c
21	18	0,77 ^c	1,13 ^{bc}
28	18	0,79 ^b	1,11 ^c
ANOVA			
Örnek (Ö)	5	**	**
Depolama Süresi (D)	4	**	**
Ö x D	20	**	ns
Hata	60		

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

Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinde serum ayrılması değerleri Çizelge 4.15'te verilmiştir. Örneklerde serum ayrılması değerleri 0,92 mL/25g ile 1,30 mL/25g arasında değişim göstermiştir. Ortalama serum ayrılması değerleri incelendiğinde ise en düşük değer (1,11 mL/25g) depolamanın 28. gününde, en yüksek değer (1,18 mL/25g) ise 1. gününde ölçüldüğü görülmektedir.

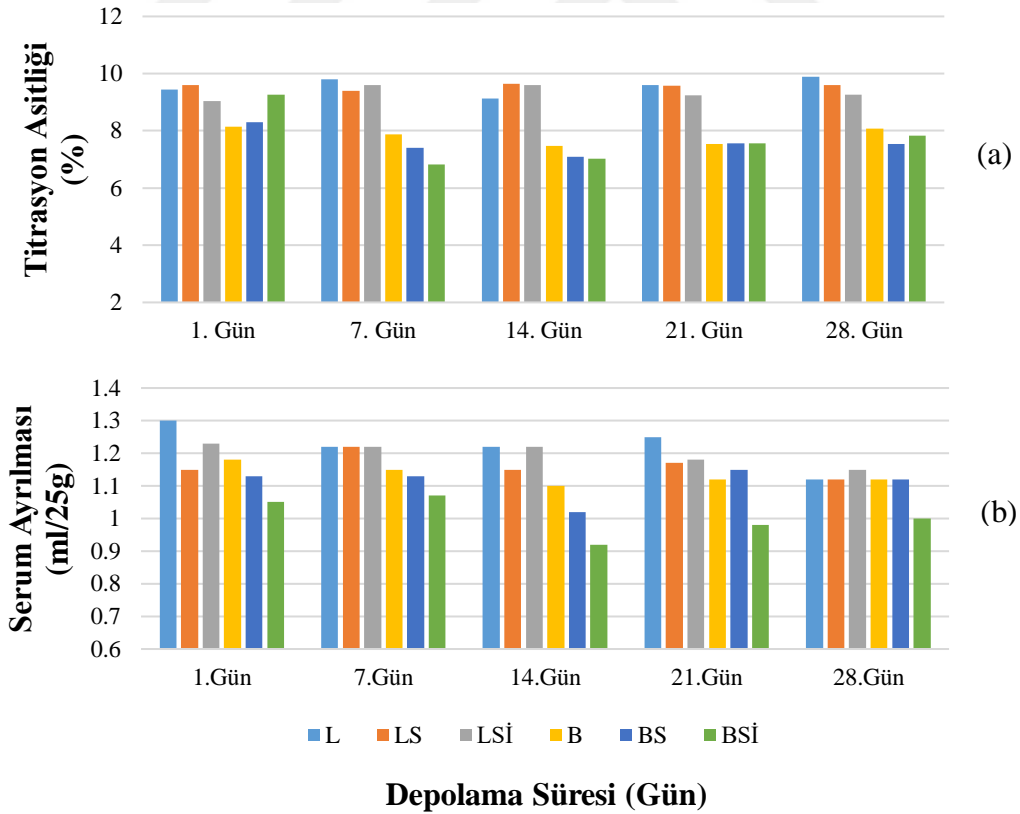
Yoğurt örneklerindeki serum ayrılması değerlerine ait varyans analiz sonuçlarına göre; ölçülen serum ayrılması değerlerindeki yoğurt çeşidi ve depolama süresi farklılıkları istatistiksel açıdan p<0,01 düzeyinde önemli bulunurken, yoğurt çeşidi x depolama süresi önemsiz bulunmuştur (p>0,01;0,05) (Çizelge 4.16).

Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin serum ayrılması değerlerine ait LSD testi sonuçları incelendiğinde en yüksek serum ayrılması değeri (1,22 mL/25g) L örneğinde, en düşük serum ayrılması değeri (1,01 mL/25g) ise BSİ örneğinde

saptanmıştır (Çizelge 4.16). Örneklerin serum ayrılması değerlerinin; jelin asitliği, çapraz bağlı ağ yapısı ve jelleşme kapasitesindeki farklılıklarla ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Probiyotik yoğurt örneklerinin serum ayrılması değerlerinin depolama süresine ilişkin LSD testi sonuçlarına göre en yüksek serum ayrılması değeri (1,18 mL/25g) depolamanın 1. gününde, en düşük serum ayrılması değeri (1,11 mL/25g) ise 28. günde saptanmıştır (Çizelge 4.16). Kontrol ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin serum ayrılması değerlerinin depolama süresince azaldığı görülmekte ve bu durumun probiyotik bakterilerin metabolik faaliyetleri sebebiyle protein matrisi üzerindeki net basıncın azalmasına bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir (Sahan ve ark. 2008).

Şekil 4.6’da depolama süresi boyunca kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği (%) ve serum ayrılması (mL/25g) değerleri görülmektedir.



Şekil 4.6. Depolama süresi boyunca kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinde titrasyon asitliği (%) (a) ve serum ayrılması (ml/25g) (b) değerleri

Renk, gıdaların tüketici tarafından değerlendirilmesi ve tercih edilmesinde etkili olan en önemli kriterlerden biridir. Bu nedenle uygulanan renk analizinde, probiyotik yoğurt örnekleri L , a ve b olmak üzere üç farklı parametre açısından değerlendirilmiştir. L , 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değer almakta ve parlaklığı; a , -120 ile 120 arasında değer olarak kırmızılık/yeşillik; b ise -120 ile 120 aralığında değer olarak sarılık/mavilik değerini ifade etmektedir. Yoğurt örneklerinde L değerleri 70,86 ile 74,61 arasında değişiklik göstermiş; ortalama L değerlerine göre en düşük değer (72,09) depolamanın 28. gününde, en yüksek değer (73,81) ise 1. günde belirlenmiştir (Çizelge 4.17).

Yoğurt örneklerinde belirlenen a değerleri -3,11 ile -2,51 arasında değişim göstermiştir. Ortalama a değerleri incelendiğinde ise en düşük değer (-2,80) depolama süresinin 14. gününde ölçülürken, en yüksek değer (-2,63) 28. günde ölçülmüştür (Çizelge 4.17). Yoğurt örneklerinde belirlenen b değerleri 6,72 ile 8,23 arasında değişim göstermiştir. Çizelge 4.17’de belirtilen ortalama b değerlerine göre en düşük değer (7,07) depolamanın 1. gününde, en yüksek değer (7,78) ise 28. günde saptanmıştır.

Probiyotik yoğurt örneklerinde renk parametrelerine (L , a ve b) dair varyans analizi sonuçlarına göre; yoğurt örneklerinin L ve a değerleri arasındaki yoğurt çeşidi ve depolama süresi farklılıkları ile yoğurt çeşidi ve depolama süresi etkileşimini istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0,01$). Yoğurt örneklerinin b değerleri arasındaki yoğurt çeşidi ve depolama süresi farklılıkları istatistiksel açıdan ($p < 0,01$) önemli bulunurken; yoğurt çeşidi ve depolama süresi etkileşimini ise önemli bulunmamıştır ($p > 0,01; 0,05$) (Çizelge 4.18).

Probiyotik yoğurt örneklerinin L , a ve b değerlerine ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.18’de verilmiştir. En yüksek L değeri (73,12) LSİ örneğinde, en yüksek a değeri (-2,46) B örneğinde ve en yüksek b değeri (7,84) ise yine B örneğinde saptanmıştır (Çizelge 4.18). Örneklerin L , a ve b değerlerinin depolama süresine ilişkin LSD testi sonuçlarına göre depolama süresince en yüksek L değeri (73,81) 1. günde, en yüksek a değeri (-2,63) ve en yüksek b değeri (7,78) ise 28. günde belirlenmiştir. Bulgular incelendiğinde depolama süresince yoğurt örneklerinde L değeri yani parlaklık azalırken; b değerinin yani sarılık derecesinin arttığı görülmektedir (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.17. Kontrol grubu ve stevia katkıli probiyotik yoğurt örneklerinin *L*, *a* ve *b* değerlerindeki değişim

Yoğurt Çeşidi	<i>L</i>					<i>a</i>					<i>b</i>				
	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
L	73,58	73,16	73,34	72,77	72,41	-2,87	-2,76	-2,78	-2,64	-2,60	6,73	7,27	7,44	7,37	7,65
LS	73,27	72,93	72,30	72,2	72,68	-2,95	-2,90	-2,79	-2,72	-2,60	7,21	7,31	7,75	7,62	7,92
LSİ	73,22	73,17	73,03	73,28	72,89	-2,88	-2,69	-2,72	-2,68	-2,54	6,87	6,99	7,14	7,12	7,47
B	74,61	72,81	72,41	71,53	71,02	-2,90	-2,78	-2,76	-2,68	-2,58	7,39	7,59	7,90	8,23	8,11
BS	73,84	72,3	72,02	71,79	72,07	-2,51	-2,66	-2,68	-2,56	-2,66	7,47	7,65	7,80	7,66	7,56
BSİ	74,35	72,46	70,86	71,18	71,47	-2,62	-2,92	-3,11	-2,91	-2,83	6,72	6,94	7,06	7,10	7,99
Minimum	73,58	72,46	70,86	71,18	71,47	-2,95	-2,92	-3,11	-2,91	-2,83	6,72	6,94	7,06	7,10	7,47
Maksimum	74,61	73,17	73,34	73,28	72,89	-2,51	-2,66	-2,68	-2,56	-2,54	7,47	7,65	7,90	8,23	8,11
Ortalama	73,81	72,81	72,32	72,13	72,09	-2,79	-2,79	-2,80	-2,70	-2,63	7,07	7,29	7,51	7,52	7,78

Çizelge 4.18. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin *L*, *a* ve *b* değerlerine ait LSD testi sonuçları

Yoğurt Çeşidi	N	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
L	15	73,05 ^{ab}	-2,73 ^c	7,29 ^c
LS	15	72,68 ^{bc}	-2,79 ^{cd}	7,56 ^b
LSİ	15	73,12 ^a	-2,70 ^{bc}	7,12 ^c
B	15	72,47 ^{cd}	-2,46 ^a	7,84 ^a
BS	15	72,41 ^{cd}	-2,61 ^b	7,63 ^{ab}
BSİ	15	72,06 ^d	-2,88 ^d	7,16 ^c
Depolama Süresi (Gün)				
1	18	73,81 ^a	-2,79 ^{bc}	7,07 ^c
7	18	72,81 ^b	-2,79 ^{bc}	7,29 ^{bc}
14	18	72,32 ^c	-2,80 ^c	7,51 ^b
21	18	72,13 ^c	-2,70 ^b	7,52 ^b
28	18	72,09 ^c	-2,63 ^a	7,78 ^a
ANOVA				
Örnek (Ö)	5	**	**	**
Depolama Süresi (D)	4	**	**	**
Ö x D	20	**	**	ns
Hata	60			

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

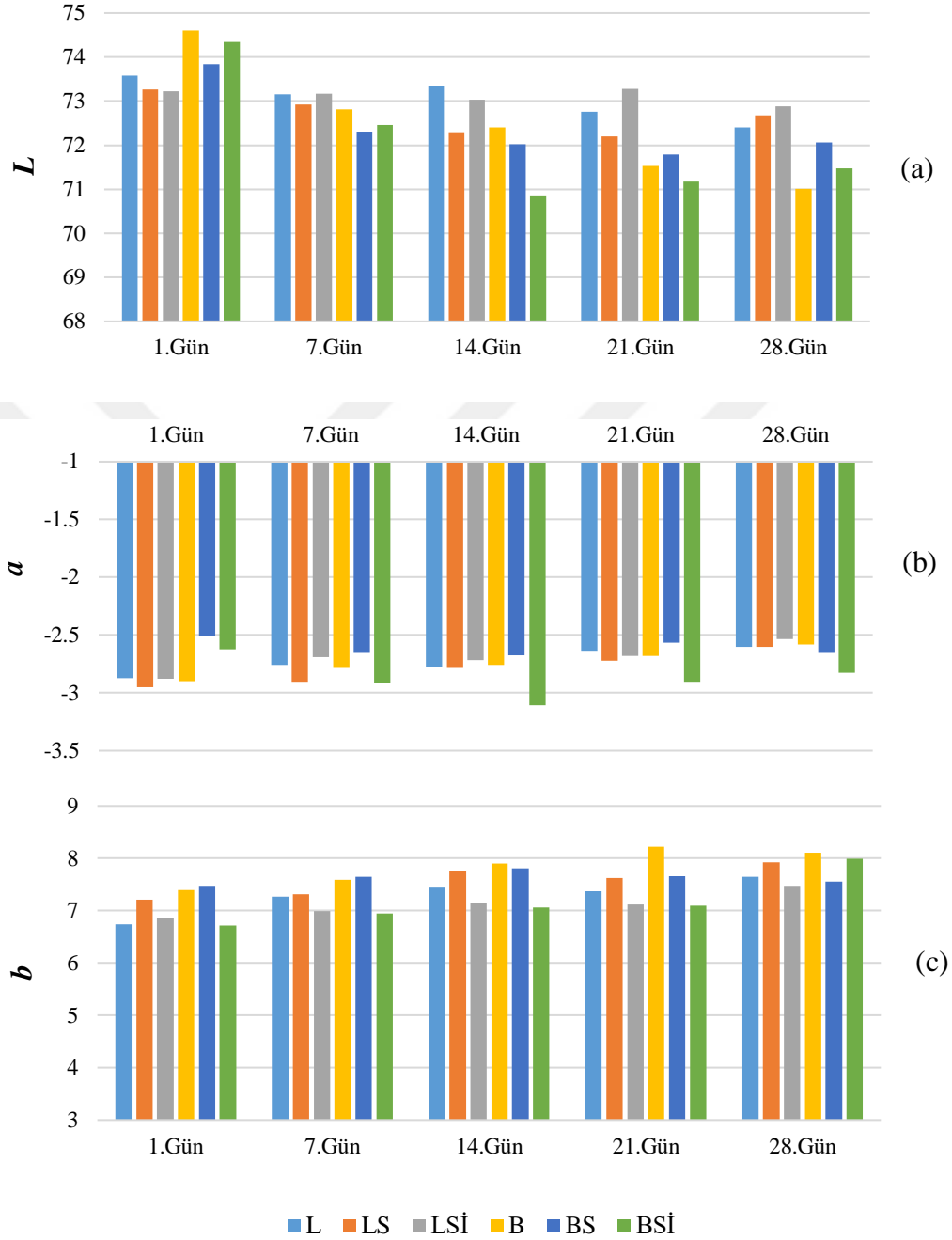
Elde edilen veriler incelendiğinde, parlaklığı ifade eden *L* değerinin L grubu örneklerde (L, LS ve LSİ), B grubu (B, BS ve BSİ) örneklere göre daha yüksek olduğu yani L grubu örneklerin daha parlak bulunduğu görülmektedir. Bu durumun yoğurt üretiminde kültür olarak kullanılan iki bakterinin (*B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*) metabolik faaliyetleri ve fermantasyon seyriindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

28 günlük depolama süresi boyunca kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin *L*, *a* ve *b* değerlerinin değişimi Şekil 4.7’de görülmektedir.

4.2.3. Stevia içeren yoğurtların tekstürel özellikleri

Maksimum kuvvet olarak tanımlanan firmness ya da pıhtı sıklığı değeri yoğurt kalitesinin belirlenmesinde etkili olan parametrelerden biridir (Izadi ve ark. 2015). Probiyotik yoğurt örneklerinin sıklık değerleri 114,60 g ile 208,71 g arasında değişim göstermiştir. Ortalama sıklık değeri incelendiğinde ise en düşük değer (139,98 g)

depolamanın 1. gününde ve en yüksek değer (158,63 g) 28. günde saptanmıştır (Çizelge 4.19).



Şekil 4.7. Depolama süresi boyunca kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinde L (a), a (b) ve b (c) değerleri

Probiyotik yoğurt örneklerinin sıklık değerlerine ait varyans analiz sonuçlarına göre; örneklerin sıklık değerleri arasındaki yoğurt çeşidi ve depolama süresi farklılıkları ile yoğurt çeşidi x depolama süresi interaksyonu istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,01$) (Çizelge 4.20)

Probiyotik yoğurt örneklerinin sıklık değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.20'de verilmiştir. Yoğurt örneklerinde en yüksek sıklık değeri 194,98 g ile B örneğinde belirlenmiş; genel olarak *L. acidophilus* içeren örneklerde ise daha düşük sıklık değerleri saptanmıştır. Yoğurt üretiminde kullanılan kültür çeşidi, ürünün asitliği ve protein matrisi; yoğurt sıklık değerini etkileyen faktörler arasında yer almaktadır.

Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin sıklık değerlerine ilişkin LSD testi sonuçlarına göre; depolama süresince en yüksek sıklık değeri (158,63 g) 28. günde ölçülmüştür (Çizelge 4.20). Sodini ve ark. (2004) uzun depolama süresinin yoğurt örneklerinin bazı tekstürel özellikleri üzerinde etkili olduğunu; bu durumun asitlik ve kazein hidrasyonundaki artıştan kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir.

Konsistens değeri, ürünün yoğunluğu hakkında bilgi vermekte ve tekstür analiz grafiğinde pozitif eğrinin altında kalan alanın hesaplanması ile belirlenmektedir. Yüksek konsistens değeri ürünün kıvamlı ve yüksek yoğunluğa sahip ürünü ifade etmektedir. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin konsistens değerleri 1337,18 gs ve 3138,27 gs arasında değişim göstermiştir. Ortalama konsistens değerleri incelendiğinde en düşük konsistens değeri (2149,91 gs) depolamanın 21. gününde en yüksek konsistens değeri (2375,47 gs) ise 14. günde saptanmıştır (Çizelge 4.19).

Probiyotik yoğurt örneklerinin konsistens (gs) değerlerine ait varyans analizine göre; örneklerin konsistens değerleri arasındaki farklılık yoğurt çeşidi açısından istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Depolama süresi farklılıkları ile yoğurt çeşidi ve depolama süresi interaksyonu ise istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0,01;0,05$) (Çizelge 4.20).

Yoğurt örneklerinin konsistens değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.20’de verilmiştir. Probiyotik yoğurt örneklerinde en yüksek konsistens değeri 3033,59 gs ile B örneğinde, en düşük konsistens değeri ise 1907,84 gs ile LSİ örneğinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.19). Yoğurt pıhtısının ölçülebilen reolojik özelliklerinden biri olan konsistens değeri; toplam kuru madde ve protein oranı başta olmak üzere denatüre serum proteinleri oranı, denatüre serum proteinleri ile κ -kazein interaksyonu, prebiyotik substrat çeşidi ve miktarı, pH değişimi gibi pek çok faktörden etkilenmektedir (Puvanenthiran ve ark. 2002). Yoğurt örneklerinin konsistens değerleri incelendiğinde prebiyotik potansiyeli araştırılan stevianın ve prebiyotik bir substrat olan inülinin miktarının peynir altı suyu proteinleri ve κ -kazein arasındaki etkileşim ve misel stabilitesini ve yoğurt konsistensini etkilediği düşünülmektedir.

Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin depolama boyunca konsistens değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.20’de verilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde; konsistens değerinin depolama süresince arttığı ancak istatistiksel açıdan önem taşımadığı sonucuna ulaşılmaktadır ($p>0,01;0,05$).

İç yapışkanlık değeri; maksimum negatif kuvvet olarak tanımlanmakta, güçlü bir bağ oluşumu ve yoğurdun yapısal bir bütünlük göstermesiyle ilişkilendirilmektedir. Tekstür analizinde uygulanan ikinci sıkıştırma sonrasındaki pozitif alan, birinci sıkıştırmadaki pozitif alana oranlanarak iç yapışkanlık değeri hesaplanmaktadır (Peng ve ark. 2009, Delikanlı ve Özcan 2014). Stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin iç yapışkanlık değerleri -53,08 g ile -92,79 g arasında değişim göstermiştir. Ortalama iç yapışkanlık değerleri incelendiğinde en düşük değer (-65,38 g) depolamanın 1. gününde, en yüksek değer (-73,74 g) ise 21. günde belirlendiği görülmektedir (Çizelge 4.19).

Kontrol ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin iç yapışkanlık (g) değerlerine ilişkin varyans analizine göre; örneklerin konsistens değerleri arasındaki farklılık yoğurt çeşidi açısından önemli ($p<0,05$) bulunurken; depolama süresi farklılıkları ile yoğurt çeşidi ve depolama süresi interaksyonu ise önemsiz bulunmuştur ($p>0,01;0,05$) (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.19. Kontrol grubu ve stevia katkıli probiyotik yoğurt örneklerinin tekstürel özellikleri

Yoğurt Çeşidi	Sıklık (Firmness, g)					Konsistens (gs)				
	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
L	136,26	134,95	137,44	130,00	131,56	2098,57	2098,37	2142,43	2158,67	2108,53
LS	121,69	112,55	136,15	142,53	144,63	1954,32	1990,91	2184,54	2207,55	2247,56
LSİ	123,72	136,61	116,01	106,26	135,91	1902,56	2115,69	1795,69	1739,80	1975,35
B	173,60	196,84	196,21	199,53	208,71	2815,48	3015,09	3104,13	3128,30	3138,27
BS	168,22	159,64	153,18	162,53	156,50	2318,93	2508,37	2314,45	2327,98	2323,83
BSİ	116,44	115,87	114,60	117,85	174,49	2129,35	1740,53	2711,58	1337,18	2242,63
Minimum	116,44	115,87	114,60	117,85	131,56	2098,57	1740,53	2142,43	1337,18	2108,53
Maksimum	173,60	196,84	196,21	199,53	208,71	2815,48	3015,09	3104,13	3128,30	3138,27
Ortalama	139,98	142,74	142,26	143,12	158,63	2203,20	2244,83	2375,47	2149,91	2339,36

Çizelge 4.19. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin tekstürl özellikleri (devamı)

Yoğurt Çeşidi	İç Yapışkanlık (g)					Viskozite İndeksi (gs)				
	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
L	-54,83	-60,97	-65,71	-63,16	-64,74	-97,06	-97,76	-98,70	-100,67	-102,92
LS	-53,08	-59,70	-67,40	-71,41	-73,34	-91,31	-95,27	-103,44	-107,58	-108,67
LSİ	-62,53	-75,03	-63,38	-55,04	-65,89	-93,17	-114,35	-95,92	-84,51	-112,47
B	-82,74	-79,63	-83,65	-82,66	-84,29	-199,90	-199,74	-189,23	-195,53	-179,35
BS	-77,93	-81,11	-78,43	-77,37	-72,21	-136,28	-139,89	-136,00	-128,37	-108,88
BSİ	-61,16	-57,09	-69,03	-92,79	-65,64	-112,65	-91,92	-102,95	-110,61	-117,06
Minimum	-53,08	-57,09	-63,38	-55,04	-64,74	-91,31	-91,92	-95,92	-84,51	-102,92
Maksimum	-82,74	-81,11	-83,65	-92,79	-84,29	-199,90	-199,74	-189,23	-195,53	-179,35
Ortalama	-65,38	-68,92	-71,27	-73,74	-71,02	-121,73	-123,15	-121,04	-121,21	-121,56

Yoğurt örneklerinin iç yapışkanlık (g) değerlerine ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.20’de verilmiştir. Probiyotik yoğurt örneklerinde en yüksek iç yapışkanlık değeri -82,59 g ile B örneğinde, en düşük iç yapışkanlık değeri ise -61,95 g ile L örneğinde belirlenmiştir (Çizelge 4.20). Tunick (2000), yoğurttaki iç yapışkanlıktan protein matriksinin sorumlu olduğunu belirtmektedir.

Elde edilen bulgulara göre; B grubu örneklerinin iç yapışkanlık değerleri L grubu örneklerinden daha yüksek bulunmuştur. Yüksek bir iç yapışkanlık değerinin güçlü bir jel yapısıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu doğrultuda *B. animalis* subsp. *lactis* kullanılarak üretilen yoğurt örneklerinde daha güçlü bir jel yapısının oluştuğu sonucuna ulaşılabilmektedir.

Stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin depolama süresince iç yapışkanlık (g) değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.20’de verilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde; iç yapışkanlık değerinin depolama süresince stabil kaldığı sonucuna ulaşılmaktadır.

Yoğurtlarda viskozite indeksi; fermantasyon sırasında meydana gelen fizikokimyasal ve biyokimyasal değişimlere bağlı olarak kazein misellerinin agregasyonu ve jel oluşumu ile ilişkilendirilmektedir (Singh ve Kim 2009). Kontrol ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin viskozite indeksi değerleri -84,51 gs ile -199,06 gs arasında değişim göstermiştir. Ortalama viskozite indeksi değerleri incelendiğinde ise en düşük değer (-121,04 gs) depolamanın 14. gününde ve en yüksek değer (-123,15 gs) ise 7. günde saptanmıştır (Çizelge 4.19).

Stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin viskozite indeksi değerlerine ait LSD testi sonuçları Çizelge 4.20’de verilmiştir. Probiyotik yoğurt örneklerinde en yüksek viskozite indeksi değeri -192,75 gs ile B örneğinde, en düşük viskozite indeksi değeri ise -99,42 gs ile L örneğinde belirlenmiştir (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. Kontrol grubu ve stevia katkıli probiyotik yoğurt örneklerinin tekstürel özelliklerine ait LSD testi sonuçları

Yoğurt Çeşidi	N	Sıklık (Firmness, g)	Konsistens(gs)	İç Yapışkanlık (g)	Viskozite İndeksi (gs)
L	15	133,35 ^c	2121,31 ^{bc}	-61,95 ^c	-99,42 ^c
LS	15	131,51 ^c	2116,98 ^{bc}	-64,99 ^{bc}	-101,39 ^c
LSİ	15	123,71 ^c	1907,84 ^c	-63,11 ^{bc}	-99,49 ^c
B	15	194,98 ^a	3033,59 ^a	-82,59 ^a	-192,75 ^a
BS	15	160,01 ^b	2358,71 ^b	-77,41 ^{ab}	-129,80 ^b
BSİ	15	127,67 ^c	1968,98 ^c	-69,14 ^{abc}	-106,97 ^{bc}
Depolama					
1	18	139,99 ^b	2203,21 ^a	-65,38 ^a	-121,73 ^a
7	18	142,74 ^b	2244,83 ^a	-68,92 ^a	-123,15 ^a
14	18	142,27 ^b	2375,47 ^a	-71,27 ^a	-121,04 ^a
21	18	143,12 ^b	2149,90 ^a	-73,74 ^a	-121,21 ^a
28	18	158,63 ^a	2339,36 ^a	-71,02 ^a	-121,56 ^a
ANOVA					
Örnek (Ö)	5	**	**	*	**
Depolama Süresi (D)	24	**	ns	ns	ns
Ö x D	20	**	ns	ns	ns
Hata	60				

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

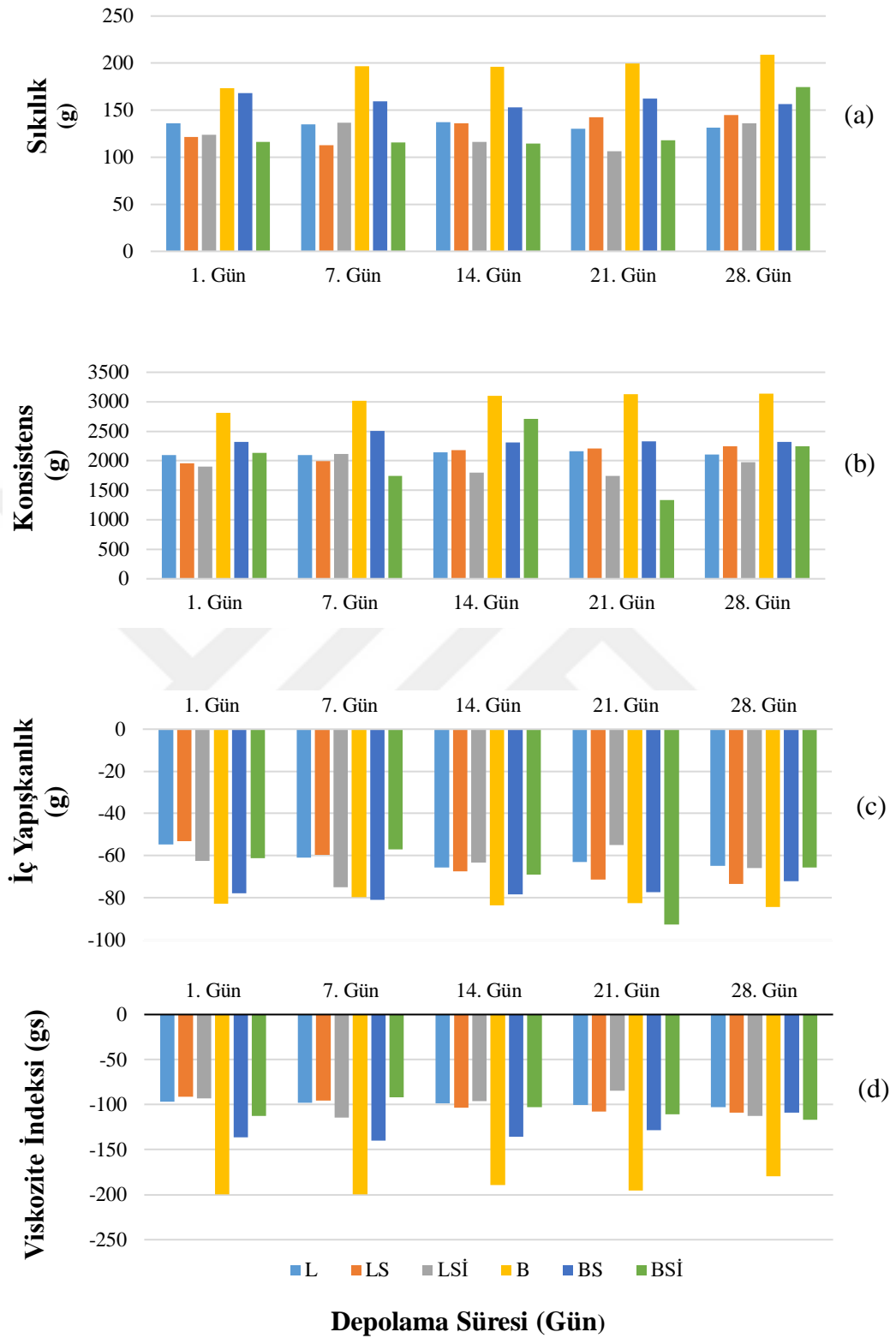
Elde edilen bulgular incelendiğinde; B grubu örneklerinin viskozite indeksi değerlerinin L grubu örneklerine göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum kültür olarak kullanılan bakterinin, ürünün viskozite indeksi ve diğer tekstürel özellikleri üzerine etkili olmasından kaynaklanmakta ve farklı kültürler kullanılarak üretilen yoğurt örneklerinin jel yapısındaki farklılıkları ortaya koymaktadır. Genel olarak stevia ve stevia + inülin katkılı örneklerin viskozite indeksi değerleri benzer bulunmuştur. Prebiyotik substrat olarak değerlendirilen stevia ve bifidojenik faktör olan inülinin, protein-su hidrofilik reaksiyonu dolayısıyla su tutma kapasitesini ve viskozite indeksini attırması elde edilen veriler üzerinde etkili olmuştur.

Stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca viskozite indeksi (gs) değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.20’de verilmiştir. Elde edilen bulgular incelendiğinde; viskozite indeksi değerinin depolama süresince stabil kaldığı ve istatistiksel açıdan önem taşımadığı sonucuna ulaşılmaktadır.

Şekil 4.8’de kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca sıklık, konsistens, iç yapışkanlık ve viskozite indeksi değerlerindeki değişim görülmektedir.

4.2.4. Stevia içeren yoğurtların duyuşal özellikleri

Duyusal özellikler, gıdanın tüketici tarafından değerlendirilmesinde satın alma ve tüketim kararını etkileyen en önemli unsurdur. Duyusal değerlendirmenin ilkeleri; tüketici tepkilerinin oluşturulması, ölçülmesi, analizi ve sonuçların yorumlanmasını kapsamaktadır (Altuğ-Onoğur ve Elmacı 2011). Stevia katkılı probiyotik yoğurt örnekleri görünüş, yapı ve tekstür, koku, renk, aroma yoğunluğu, tat, duyuşal asitlik ve genel kabul edilebilirlik parametreleri açısından maksimum 5 puan üzerinden değerlendirilmiş, yapılan analiz sonucunda elde edilen değerler Çizelge 4.21’de verilmiştir. Bulgular tüm duyuşal değerlendirme parametreleri açısından incelendiğinde panelistler tarafından verilen puanların 4,42 ile 5,00 arasında değişim gösterdiği görülmektedir.



Şekil 4.8. Kontrol grubu ve stevia katkıli probiyotik yoğurt örneklerinin depolama süresince sıklık (g) (a), konsistens (gs) (b), iç yapışkanlık (g) (c) ve viskozite indeksi (gs) (d) değerleri

Probiyotik yoğurt örneklerinin duyuşal değerlendirme testi değerlerine ait varyans analizine göre; görünüş, yapı ve tekstür, renk, aroma yoğunluğu, tat, duyuşal asitlik ve genel kabul edilebilirlik parametreleri açısından örneklerin yoğurt çeşidi ve depolama süresi farklılıkları istatistiksel olarak $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunurken; yoğurt çeşidi ve depolama süresi interaksiyonu ise önemli bulunmamıştır ($p > 0,01; 0,05$). Varyans analizi verileri koku parametresi açısından incelendiğinde; yoğurt çeşidi ve depolama süresi farklılıklarının istatistiksel olarak $p < 0,01$ düzeyinde, yoğurt çeşidi ve depolama süresi interaksiyonunun ise $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunduğu görülmektedir (izelge 4.22).

Yoğurt rneklerinin duyuşal değerlendirme parametreleri puanlarına ait LSD testi sonuçları izelge 4.22’de verilmiştir. Probiyotik yoğurt örneklerinde en düşük puan duyuşal asitlik açısından, BS (4,70) ve BSİ (4,69) rneğinde; en yüksek puan ise renk açısından 4,99 ile L, LS, LSİ ve 4,98 ile B rneğinde belirlenmiştir (izelge 4.22). Görünüş, yapı ve tekstür, renk, aroma yoğunluğu, tat, duyuşal asitlik ve genel kabul edilebilirlik açısından L grubu rnekler (L, LS, LSİ), B grubu rneklerle (B, BS, BSİ) göre daha çok beğenilmiş ve tercih edilmiştir. Bu durumun L grubu neklerin üretiminde kültür olarak kullanılan bakteri türünün (*Lactobacillus acidophilus*) şekillendirdiği fermantasyonun seyri ve oluşturduğu aroma metabolitleri ile ilişekli olduğu düşünülmektedir. Ayrıca depolama süresince tüm duyuşal değerlendirme parametrelerine ait puanların artış gösterdiği de saptanmıştır.

Depolama süresi; probiyotik bakterilerin büyümesi, pH gelişimi ve sineresise bağlı olarak yoğurtların renk, aroma ve yapısal özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir (Aryana ve McGrew 2007). Probiyotik yoğurt örneklerinin depolama süresince duyuşal değerlendirme sonuçlarına ilişekin LSD testi incelendiğinde en yüksek puan değeri renk parametresi açısından depolamanın 28. (5,00) ve 14. (4,99) gününde, görünüş açısından (4,99) ise depolamanın 14. ve 28. gününde verilmiştir. Elde edilen verilere göre yapı ve tekstür, duyuşal asitlik ve genel kabul edilebilirlik özellikleri açısından panelist puanları depolama boyunca artma eğilimi göstermiştir. Fermantasyonun 1. ve 14. günleri arasında genel kabul edilebilirlik puanının sürekli olarak arttığı tespit edilmiştir (izelge 4.22).

Çizelge 4.21. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin duyusal değerlendirme puanları

Yoğurt Çeşidi	Görünüş					Yapı ve Tekstür					Koku					Renk				
	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
L	4,92	4,99	4,98	4,98	5,00	4,75	4,94	4,90	4,98	4,92	4,97	4,99	4,98	4,97	5,00	5,00	5,00	5,00	4,98	5,00
LS	4,93	4,93	5,00	4,95	4,99	4,63	4,80	4,88	4,85	4,93	4,70	4,83	4,96	4,87	4,97	4,90	4,99	5,00	5,00	5,00
LSİ	4,92	4,92	5,00	5,00	5,00	4,88	4,91	4,92	4,98	4,91	4,95	4,94	4,98	4,97	4,96	4,98	4,99	5,00	5,00	5,00
B	4,97	4,96	4,98	5,00	5,00	4,92	4,90	4,94	4,88	5,00	4,90	4,88	4,98	4,98	4,96	4,95	5,00	5,00	5,00	5,00
BS	4,87	4,87	4,98	4,93	4,96	4,73	4,72	4,88	4,85	4,91	4,73	4,88	4,90	4,93	4,96	4,90	4,94	4,98	4,95	5,00
BSİ	4,97	4,80	4,98	4,85	4,97	4,80	4,82	4,98	4,85	4,89	4,70	4,87	4,90	4,88	4,96	4,92	4,93	4,98	4,90	5,00
Minimum	4,87	4,80	4,98	4,85	4,96	4,63	4,72	4,88	4,85	4,89	4,70	4,83	4,90	4,87	4,96	4,90	4,93	4,98	4,90	5,00
Maksimum	4,97	4,99	5,00	5,00	5,00	4,92	4,94	4,98	4,98	5,00	4,97	4,99	4,98	4,98	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Ortalama	4,93	4,91	4,99	4,95	4,99	4,79	4,85	4,92	4,90	4,93	4,83	4,90	4,95	4,93	4,97	4,94	4,98	4,99	4,97	5,00

Çizelge 4.21. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin duyusal değerlendirme puanları (devamı)

Yoğurt Çeşidi	Aroma Yoğunluğu					Tat					Duyusal Asitlik					Genel Kabul Edilebilirlik				
	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
L	4,68	4,96	4,96	4,93	4,90	4,67	4,93	4,90	4,93	4,87	4,80	4,97	4,90	4,92	4,90	4,85	4,96	4,92	4,92	4,89
LS	4,48	4,70	4,78	4,87	4,91	4,60	4,77	4,80	4,83	4,89	4,67	4,73	4,76	4,92	4,91	4,75	4,76	4,79	4,87	4,88
LSİ	4,97	4,81	4,84	4,93	4,93	4,90	4,86	4,88	4,97	4,88	4,68	4,87	4,82	4,88	4,90	4,84	4,88	4,92	4,98	4,91
B	4,87	4,89	4,86	4,92	4,98	4,85	4,88	4,88	4,90	4,89	4,65	4,87	4,86	4,87	4,94	4,75	4,89	4,91	4,90	4,94
BS	4,80	4,73	4,76	4,85	4,92	4,80	4,83	4,78	4,80	4,81	4,53	4,57	4,74	4,82	4,84	4,74	4,84	4,83	4,82	4,84
BSİ	4,65	4,74	4,76	4,75	4,90	4,58	4,67	4,80	4,83	4,86	4,42	4,61	4,8	4,73	4,87	4,74	4,76	4,81	4,81	4,88
Minimum	4,48	4,70	4,76	4,75	4,90	4,58	4,67	4,78	4,80	4,81	4,42	4,57	4,74	4,73	4,84	4,74	4,76	4,79	4,81	4,84
Maksimum	4,97	4,96	4,96	4,93	4,98	4,90	4,93	4,90	4,97	4,89	4,80	4,97	4,90	4,92	4,94	4,85	4,96	4,92	4,98	4,94
Ortalama	4,74	4,81	4,83	4,88	4,92	4,73	4,82	4,84	4,88	4,87	4,63	4,77	4,81	4,86	4,89	4,78	4,85	4,86	4,88	4,89

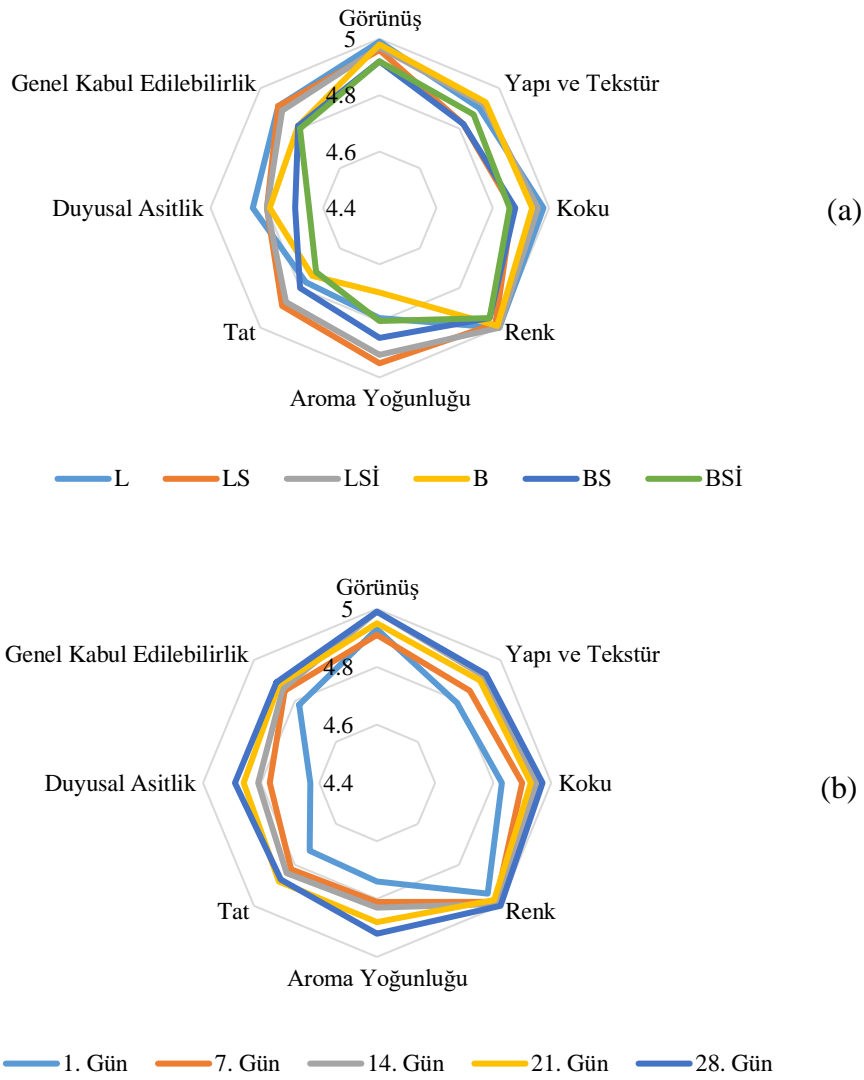
Çizelge 4.22. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin duyuusal değerlendirmesine ait LSD testi

Yoğurt Çeşidi	N	Görünüş	Yapı ve Tekstür	Koku	Renk	Aroma Yoğunluğu	Tat	Duyusal Asitlik	Genel Kabul Edilebilirlik
L	35	4,96 ^a	4,90 ^{ab}	4,98 ^a	4,99 ^a	4,89 ^a	4,86 ^{abc}	4,90 ^a	4,91 ^a
LS	35	4,96 ^a	4,92 ^a	4,96 ^a	4,99 ^a	4,90 ^a	4,90 ^a	4,83 ^a	4,91 ^a
LSİ	35	4,98 ^a	4,93 ^a	4,94 ^{ab}	4,98 ^a	4,90 ^a	4,88 ^{ab}	4,84 ^a	4,88 ^a
B	35	4,96 ^a	4,82 ^b	4,87 ^c	4,98 ^a	4,75 ^b	4,78 ^{bc}	4,80 ^{ab}	4,81 ^b
BS	35	4,91 ^b	4,82 ^b	4,88 ^{bc}	4,94 ^b	4,81 ^{ab}	4,81 ^{abc}	4,70 ^b	4,81 ^b
BSİ	35	4,97 ^a	4,87 ^{ab}	4,86 ^c	4,93 ^b	4,76 ^b	4,77 ^c	4,69 ^b	4,80 ^b
Depolama Süresi (Gün)									
1	42	4,93 ^{bc}	4,79 ^b	4,83 ^c	4,94 ^b	4,74 ^c	4,73 ^b	4,63 ^c	4,78 ^b
7	42	4,91 ^c	4,85 ^{ab}	4,90 ^b	4,98 ^b	4,81 ^{bc}	4,82 ^{ab}	4,77 ^b	4,85 ^{ab}
14	42	4,99 ^a	4,92 ^a	4,95 ^{ab}	4,99 ^a	4,83 ^{abc}	4,84 ^{ab}	4,81 ^{ab}	4,86 ^a
21	42	4,95 ^b	4,90 ^a	4,93 ^{ab}	4,97 ^{ab}	4,88 ^{ab}	4,88 ^a	4,86 ^{ab}	4,88 ^a
28	42	4,99 ^a	4,93 ^a	4,97 ^a	5,00 ^a	4,92 ^a	4,87 ^a	4,89 ^a	4,89 ^a
ANOVA									
Örnek (Ö)	5	**	**	**	**	**	**	**	**
Depolama Süresi (D)	4	**	**	**	**	**	**	**	**
Ö x D	20	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
Hata	180								

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

Ek olarak, panelistler tüm parametrelerin depolama boyunca iyileştiğini belirtirken duyuasal asitliğin *L. acidophilus* içeren yoğurtlarda daha fazla, ancak tatlılığın ise asitliğin daha az algılandığı *B. animalis* subsp. *lactis* içeren yoğurtlarda daha belirgin olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca, inülin içeren yoğurtların yapı ve tekstür özelliklerinin diğerlerine göre daha yoğun ve inülinin yağ ikamesi olarak etkisinin de bir sonucu olarak daha kremamsı olduğu da belirtilmiştir.

Şekil 4.9'da kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin depolama süresince duyuasal değerlendirme parametreleri açısından verilen puanlara ilişkin değişim görülmektedir.



Şekil 4.9. Kontrol grubu ve stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin (a) depolama süresince (b) duyuasal özellikleri

5. SONUÇ

Son yıllarda gıdaların sağlık üzerindeki etkileri göz önünde bulundurularak, geleneksel gıdaların ve içerdikleri biyoaktif bileşenlerin bağırsak mikrobiyotasını modüle etme potansiyeline sahip fonksiyonel gıda ürünlerine dönüştürülmesi gıda alanındaki yeniliklerin ve alternatif ürünlerin ortaya çıkmasının nedeni olmuştur. Bu sebeple de fonksiyonel gıdalardan biri olan fermente süt ürünlerine probiyotik mikroorganizmalar ve/veya prebiyotik bileşenlerin ilave edilmesi ilginç bir pazar stratejisi haline gelmiştir.

İntestinal mikrobiyota, çeşitli metabolik hastalıkların iyileştirilmesinde tamamlayıcı bir tedavi seçeneği olarak düşünülmektedir. Bu anlamda *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri probiyotik olarak en çok kullanılan mikroorganizmalardır. En yaygın kullanılan prebiyotikler ise sindirilmeyen oligosakkaritler ve inülidir. Son yıllarda mevcut prebiyotik bileşenlere ek olarak probiyotik bakteri gelişimini ve aktivitesini stimüle edebilecek, prebiyotik potansiyele sahip doğal bifidojenik karbonhidratlar ve şeker preperatları giderek önem kazanmaktadır. Terapötik aktiviteye sahip birçok bileşen içeren stevianın kalorisiz olması gıda endüstrisinde şeker oranı azaltılmış gıdalarda potansiyel prebiyotik kaynağı olarak kullanımına ilişkin araştırmaları gündeme taşımaktadır.

Yapılan bu çalışmanın ilk aşamasında *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un gelişimi üzerine stevianın etkisi *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Bu amaçla karbonhidrat içermeyen negatif kontrol; %1 glikoz ve %1 inülin içeren pozitif kontrol ve farklı oranlarda stevia (%0,025 stevia, %0,025 stevia + %1 inülin, %1 stevia + %1 inülin) içeren sıvı besi ortamlarında bakteri fermantasyonu ve gelişimi saptanmıştır. 48 saatlik fermantasyon sonucunda pH, hücre yoğunluğu (OD₆₀₀), prebiyotik aktivite sayısı (PAS), probiyotik bakteri sayısı ile laktik asit ve KZYA miktarları belirlenmiştir.

Stevianın *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* tarafından *in vitro* koşullarda fermantasyonunun pH ve OD değerleri üzerinde etkili olduğu; *B. animalis* subsp. *lactis* bulunan örneklerde daha düşük pH değerlerine ulaşıldığı tespit edilmiştir. Besiyeri örneklerinde en düşük pH değeri ise *B. animalis* subsp. *lactis* kültürünün kullanıldığı %0,025 stevia + %1 inülin ve %1 stevia + %1 inülin içeren örneklerde saptanmıştır. Fermantasyon süresince asitlik gelişimine bağlı olarak *B. animalis* subsp. *lactis* ve

L. acidophilus'un hücre yoğunluğu değerlerinin (OD₆₀₀) artış gösterdiği belirlenmiştir. Genel olarak her iki örnek grubunda da kullanılan probiyotik bakterilerin en iyi gelişim gösterdiği besi ortamı %0,025 stevia + %1 inülin içeren ortam olmuştur. %0,025 ve %1 stevia içeren ortamlardaki karbonhidratların *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* tarafından değerlendirilebildiği ancak bu ortamlara yapılan inülin ilavesinin bakteri gelişimini uyarak daha yüksek seviyelere ulaştırdığı sonucu ortaya çıkmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen bulgulara göre *B. animalis* subsp. *lactis*'e ait PAS değeri *L. acidophilus*'un PAS değerinden daha yüksek bulunmuş; *B. animalis* subsp. *lactis* steviayı prebiyotik substrat olarak daha iyi derecede değerlendirmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda stevia bileşimindeki karbonhidratların *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus*'un gelişimi üzerine etkide bulunduğu ancak *B. animalis* subsp. *lactis*'in asitlik ve oksijene daha duyarlı olması sebebiyle *L. acidophilus* kadar yüksek bakteri sayısı ve gelişme oranı değerlerine ulaşamadığı sonucuna varılmıştır.

Besi ortamlarında *B. animalis* subsp. *lactis* ve *L. acidophilus* tarafından üretilen laktik asit ve KZYA miktarları incelendiğinde genel olarak *L. acidophilus*'un *B. animalis* subsp. *lactis*'e göre daha fazla miktarda laktik asit ve toplam KZYA ürettiği tespit edilmiştir. En yüksek laktik ve asetik asit miktarı *L. acidophilus* varlığında; sırasıyla %0,025 stevia ve %0,025 stevia + %1 inülin içeren örneklerde tespit edilmiştir. Her iki bakteri grubunda da inülin ilavesinin propiyonik asit üretimini az da olsa arttırdığı belirlenmiştir. En yüksek bütirik asit miktarı ise *B. animalis* subsp. *lactis* ve %1 stevia içeren örnek ile *L. acidophilus* ve %0,025 stevia içeren örnekte ölçülmüştür.

Çalışmanın ikinci aşamasında stevia katkılı probiyotik yoğurt örneklerinin depolama süresince (1., 7., 14., 21. ve 28.) probiyotik bakteri sayıları, fizikokimyasal karakteristikleri (titrasyon asitliği, serum ayrılması ve renk), tekstürel özellikleri (sıklık, iç yapışkanlık, konsistens, viskozite indeksi) ve hedonik test ile duyuşal özellikleri belirlenmiştir.

Yoğurt örneklerinde bakteri sayısının fermentasyon ve depolama boyunca biyoterapötik seviyede (>7 log kob/mL) kaldığı saptanmıştır. *L. acidophilus* kullanılarak üretilen yoğurtlarda en yüksek titrasyon asitliği değerleri bulunmuştur. *L. acidophilus* ile üretilen

yoğurtların *L* (*parlaklık*) ve *a* (*-a*: yeşillik) renk değerleri daha yüksek; *b* (*+b*: sarılık) değerleri ise daha düşük bulunmuştur. Her iki örnek grubu içerisinde de inülin ilavesi *b* değerini yani sarılık derecesini arttırmıştır.

Probiyotik yoğurt örnekleri tekstürel özellikler açısından incelendiğinde *B. animalis* subsp. *lactis* kullanılarak üretilen yoğurtlarda sıklık, konsistens, iç yapışkanlık ve vizkozite indeksi parametrelerinin genel olarak daha yüksek değerlere ulaştığı tespit edilmiştir. Örnek grupları kendi içerisinde ele alındığında stevia ve stevia + inülin ilavesinin B grubu örneklerde sıklık, konsistens, iç yapışkanlık ve vizkozite indeksi değerlerini az oranda azalttığı; L grubu örneklerde tekstürel açıdan belirgin bir değişimin olmadığı saptanmıştır.

Stevia ilaveli probiyotik yoğurt örnekleri duyuşsal anlamda görünüş, yapı ve tekstür, koku, renk, aroma yoğunluğu, tat, duyuşsal asitlik ve genel kabul edilebilirlik açısından değerlendirilmiş; genel olarak *L. acidophilus* kullanılarak üretilen yoğurt örnekleri daha çok beğenilmiştir. Stevia ve inülin ilavesi hem L hem de B grubu örneklerde yapı ve tekstür açısından daha yüksek puanlar almıştır.

Probiyotik mikroorganizmaların gıda sistemlerine dahil edilmesiyle üretilen probiyotik gıda ürünlerinin sayısı her geçen gün artmaktadır. Bununla birlikte, probiyotik gıda üretimindeki en önemli zorluk, gıda işleme ve depolama sırasında probiyotik mikroorganizma sayısının ve beklenen terapötik etkinin korunmasıdır. Sonuç olarak, stevia ilavesi probiyotik bakteri gelişimini ve aktivitesini artırarak yoğurtlardaki probiyotik bakteri sayısının terapötik etkinin görülebilmesi için gerekli seviyede (en az 10^6 - 10^7 kob/g) tutulmasını sağlamıştır. Ancak steviaya ek olarak gerçekleştirilen inülin ilavesi bakteri gelişimi ve sayısını arttırmada yalnızca stevia kullanımına göre daha başarılı bulunmuştur. Bu anlamda teknolojik özelliklerinin yanı sıra gastrointestinal sistemde arzu edilen mikrobiyotanın oluşması için probiyotik mikroorganizmaları teşvik ve stimüle etmesi sebebiyle stevianın yenilikçi fonksiyonel süt ürünlerinin geliştirilmesinde prebiyotik kaynak olarak kullanılabilceği düşünülmektedir. Stevianın prebiyotik potansiyeli *in vitro* ve *in vivo* canlı modellerinde probiyotik bakterilerin canlılığını sürdürmesi, gelişmesi ve kolonizasyonuna etkisinin araştırılmasına dair

gelecekteki çalışmalardan elde edilecek sonuçlarla desteklenmelidir. Buna ilaveten, mikroenkapsülasyon, hücre koruyucu ajanlar, büyümeyi teşvik eden gıda bileşenleri, antioksidanlar, oksijen bariyerli ambalaj malzemeleri ve depolama koşullarının modifikasyonu ile yüksek basınçlı işleme (HPP), darbeli elektrik alanı (PEF), aktif ve akıllı paketleme gibi yeni teknolojilerin probiyotiklerin hayatta kalmasını sağlayarak fonksiyonel süt ürünlerinin geliştirilmesinde kullanılabileceği belirtilmektedir. *In vitro* değerlendirmelerin yanı sıra sözkonusu teknolojilerin probiyotik gıda üretiminde uygulanabilirliği ve insan sağlığı üzerindeki yararlı etkileri konusunda *in vivo* çalışmalara da ihtiyaç duyulmaktadır. Bununla birlikte, gen teknolojisi de strese ve diğer olumsuz koşullara dayanıklılığı artırılmış yeni probiyotik türler geliştirmek için gelecekte önemli bir rol oynayacaktır. Bu çalışmalar ve elde edilen bulgular şeker oranı azaltılmış süt ürünlerine adapte edilerek konu ile ilgili araştırmalar da artırılabilir.

KAYNAKLAR

- 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.
- Abed, S. M., Ali, A. H., Noman, A. 2016.** Inulin as prebiotics and its applications in food industry and human health; A Review. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 5: 88-97.
- Abrams, S. A., Griffin, I. J., Hawthorne, K. M., Liang, L., Gunn, S. K., Darlington, G., Ellis, K. J. 2005.** A combination of prebiotic short-and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82: 471-476.
- Agil, R., Hosseinian, F. 2012.** Dual functionality of triticale as a novel dietary source of prebiotics with antioxidant activity in fermented dairy products. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67: 88-93.
- Ahmed, B., Hossain, M., Islam, R., Kumar Saha, A., Mandal, A. 2011.** A review on natural sweetener plant-Stevia having medicinal and commercial importance. *Agronomski Glasnik: Glasilo Hrvatskog Agronomskog Društva*, 73: 75-91.
- Ai, Z., Lv, X., Huang, S., Liu, G., Sun, X., Chen, H., Feng, Z. 2017.** The effect of controlled and uncontrolled pH cultures on the growth of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *LWT-Food Science and Technology*, 77: 269-275.
- Aida, F. M. N. A., Shuhaimi, M., Yazid, M., Maaruf, A. G. 2009.** Mushroom as a potential source of prebiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 20: 567-575.
- Akhter, N., Wu, B., Memon, A. M., Mohsin, M. 2015.** Probiotics and prebiotics associated with aqua culture: a review. *Fish and Shellfish Immunology*, 45: 733-741.
- Akin, M. B., Akin, M. S., Kirmaci, Z. 2007.** Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. *Food Chemistry*, 104: 93-99.
- Akin, Z., Ozcan, T. 2017.** Functional properties of fermented milk produced with plant proteins. *LWT-Food Science and Technology*, 86: 25-30.
- Akpınar, A., 2008.** Değişik aroma maddeleri eklenerek üretilen asidofiluslu sütün özellikleri. *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, İzmir.
- Alizadeh, M., Azizi-Lalabadi, M., and Kheirouri, S. 2014.** Impact of using stevia on physicochemical, sensory, rheology and glycemic index of soft ice cream. *Food and Nutrition Sciences*, 5: 390-396.
- Altuğ-Onoğur, T., Elmacı, Y. 2011.** Gıdalarda Duyusal Değerlendirme, 2. Baskı. Sıdaş Yayıncılık, İzmir, 133 pp.
- Aminha, S., Soumya, A. N., Raju, V. G., Goud, B. M., Irfath, M., Quadri, S. A. P. 2014.** Isolation and extraction of artificial sweetner (Stevia). *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3: 481-486.
- Anonim, 2002.** Guidelines for the evaluation of probiotics in food. The Joint FAO/WHO Expert Consultation, London Ontario, Canada, 11 pp.
- Anonim, 2006.** Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Kullanılan Tatlandırıcılar Tebliği (Tebliğ No:2006/45). T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, 26296, Resmi Gazete.
- Anonim, 2009.** Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tebliğ No: 2009/25-27143, Ankara.

- Anonim, 2012.** Chapter IV: HPLC Columns: Transgenomics Application Book, USA, pp. 284-293.
- Anonim, 2016.** Türk Standardı TS 1330/T3. <https://intweb.tse.org.tr/standard/standard/Standard.aspx?053107106111065067115113049116090107100056052055108081090071086075069085047110067109075073081116103090081086073108065117084119099109055120114116050101056050105072057071112099081120074068122106> -(Erişim tarihi:28.12.2018)-.
- Anonim, 2017.** TÜİK, Süt ve süt ürünleri üretimi raporu, 2017. Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara.
- 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.
- Anton, S. D., Martin, C. K., Han, H., Coulon, S., Cefalu, W. T., Geiselman, P., Williamson, D. A. 2010.** Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite*, 55: 37-43.
- AOAC 2012.** Official methods of analysis. 19th Association of Official Analytical of Chemist. Arlington: VA.
- Apolinário, A. C., de Lima Damasceno, B. P. G., de Macêdo Beltrão, N. E., Pessoa, A., Converti, A., da Silva, J. A. 2014.** Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. *Carbohydrate Polymers*, 101: 368-378.
- Aryana, K. J., McGrew, P. 2007.** Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *LWT-Food Science and Technology*, 40: 1808-1814.
- Ashraf, R., Shah, N. P. 2011.** Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt-A review. *International Journal of Food Microbiology*, 149: 194-208.
- Athanasiadis, I., Paraskevopoulou, A., Blekas, G., Kiosseoglou, V. 2004.** Development of a novel whey beverage by fermentation with kefir granules. Effect of various treatments. *Biotechnology Progress*, 20: 1091-1095.
- Barat, A., Ozcan, T. 2018.** Growth of probiotic bacteria and characteristics of fermented milk containing fruit matrices. *International Journal of Dairy Technology*, 71: 120-129.
- Barroso, M. R., Martins, N., Barros, L., Antonio, A. L., Rodrigues, M. Â., Sousa, M. J., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. 2018.** Assessment of the nitrogen fertilization effect on bioactive compounds of frozen fresh and dried samples of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Food Chemistry*, 243: 208-213.
- Bărzoi, D., Apostu, S. 2002.** Microbiologia produselor alimentare. Editura Risoprint. Cluj-Napoca, pp: 212-230.
- Behare P, Lule VK, Patil P., 2016.** Yogurt: Dietary importance. *Encyclopedia of Food and Health*, 612-616.
- Behare, P., Kumar, H., Mandal, S. 2016.** Yogurt (Yogurt based products): Encyclopedia of food and health, Editors: Caballero, B., Finglas P. M., Toldra F., Elsevier Incorporation, pp: 625-631.
- Bell, V., Ferrão, J., Fernandes, T. 2017.** Nutritional guidelines and fermented food frameworks. *Foods*, 6: 65-88.
- Beltrán, M. C., Morari-Pirlog, A., Quintanilla, P., Escriche, I., Molina, M. P. 2018.** Influence of enrofloxacin on the coagulation time and the quality parameters of goat's milk yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 71: 105-111.

- Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., Gil, A. 2012.** Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61: 160-174.
- Berrada, N., Lemeland, J. F., Laroche, G., Thouvenot, P., Piaia, M. 1991.** *Bifidobacterium* from fermented milks: survival during gastric transit. *Journal of Dairy Science*, 74: 409-413.
- Bertelsen, R. J., Jensen, E. T., Ringel-Kulka, T. 2016.** Use of probiotics and prebiotics in infant feeding. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 30: 39-48.
- Bhagia, S., Ferreira, J. F., Kothari, N., Nunez, A., Liu, X., da Silva Dias, N., Wyman, C. E. 2018.** Sugar yield and composition of tubers from Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus*) irrigated with saline waters. *Biotechnology and Bioengineering*, 115: 1475-1484.
- Bhaskar, M. M., Sistla, S., Kumaravel, S. 2017.** A case of pyometrocolpos with *Bifidobacterium* species. *Anaerobe*, 44: 48-50.
- 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.
- Brandle, J. E., Starratt, A. N., Gijzen, M. 2000.** *Stevia rebaudiana*: Its biological, chemical and agricultural properties. Agriculture and Agri Food, Canada, pp: 17.
- Brownawell, A. M., Caers, W., Gibson, G. R., Kendall, C. W., Lewis, K. D., Ringel, Y., Slavin, J. L. 2012.** Prebiotics and the health benefits of fiber: current regulatory status, future research, and goals, 2. *The Journal of Nutrition*, 142: 962-974.
- Buriti, F. C., Bedani, R., Saad, M. I. S. 2016.** Probiotic and prebiotic dairy desserts: Probiotics, prebiotics and synbiotics Editors: Watson., R. R, and Preedy, V. R., Elsevier Incorporated, pp: 345-360.
- Carakostas, M. C., Curry, L. L., Boileau, A. C., Brusick, D. J. 2008.** Overview: the history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 1-10.
- 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.
- Carlson, J., Slavin, J., Deng, P., Swanson, K., Hospattankar, A. 2015.** *In vitro* batch fermentation analysis of wheat dextrin and partially hydrolyzed guar gum-fermentation kinetics and prebiotics effects. *The FASEB Journal*, 29: 606-1.
- Chandan, R. C., Gandhi, A., Shah, N. P. 2017.** Yogurt: Historical background, health benefits, and global trade. *In Yogurt in Health and Disease Prevention*, 3-29.
- Chaves, A. C. S. D., Fernandez, M., Lerayer, A. L. S., Mierau, I., Kleerebezem, M., Hugenholtz, J. 2002.** Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 5656-5662.
- Chen T., Xiong S., Wang M., Wu Q., Wei H. 2012.** Effects of traditional Chinese medicines on intestinal bacteria: a review. *Indian Journal of Tradition. Knowl.* 11: 401-407.
- Chou, W. T., Sheih, I., Fang, T. J. 2013.** The applications of polysaccharides from various mushroom wastes as prebiotics in different systems. *Journal of Food Science*, 78: 1041-1048.
- Choudhary, S. K., Singh, S., Singh, R. K., Upadhyay, P. K., Singh, A. 2014.** *Stevia rebaudiana* bertonii: an alternative option of sugar crop in India. *Popular Kheti*, 2: 123-127.

- Cueva, O., Aryana, K. J. 2008.** Quality attributes of a heart healthy yogurt. *LWT-Food Science and Technology*, 41: 537-544.
- de Oliveira, M. N. 2014.** Fermented milks and yogurt: encyclopedia of food microbiology (second edition), Editors: Batt, C., Batt, C. A., Academic Press, pp: 908-922.
- 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.
- Demirgül, F., Sağdıç, O. 2018.** Fermente süt ürünlerinin insan sağlığına etkisi. *European Journal of Science and Technology*, 13: 45-53.
- Deng, Y., Misselwitz, B., Dai, N., Fox, M. 2015.** Lactose intolerance in adults: biological mechanism and dietary management. *Nutrients*, 7: 8020-8035.
- Derikx, L. A., Dieleman, L. A., Hoentjen, F. 2016.** Probiotics and prebiotics in ulcerative colitis. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 30: 55-71.
- Dixit, G., Samarth, D., Tale, V., Bhadekar, R. 2013.** Comparative studies on potential probiotic characteristics of *Lactobacillus acidophilus* strains. *EurAsian Journal of BioSciences*, 7: 1-9.
- Doherty, S. B., Auty, M. A., Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Brodkorb, A. 2012.** Application of whey protein micro-bead coatings for enhanced strength and probiotic protection during fruit juice storage and gastric incubation. *Journal of Microencapsulation*, 29: 713-728.
- Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N. P. 2006.** Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 16: 1181-1189.
- dos Santos Cruxen, C. E., Hoffmann, J. F., Zandoná, G. P., Fiorentini, Â. M., Rombaldi, C. V., Chaves, F. C. 2017.** Probiotic butiá (*Butia odorata*) ice cream: Development, characterization, stability of bioactive compounds, and viability of *Bifidobacterium lactis* during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 75: 379-385.
- Dwivedi, M., Kumar, P., Laddha, N. C., Kemp, E. H. 2016.** Induction of regulatory T cells: a role for probiotics and prebiotics to suppress autoimmunity. *Autoimmunity Reviews*, 15: 379-392.
- Edwards, C. H., Rossi, M., Corpe, C. P., Butterworth, P. J., Ellis, P. R. 2016.** The role of sugars and sweeteners in food, diet and health: Alternatives for the future. *Trends in Food Science & Technology*, 56: 158-166.
- Everett, D. W., McLeod, R. E. 2005.** Interactions of polysaccharide stabilisers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. *International Dairy Journal*, 15: 1175-1183.
- Fayed, B., Abood, A., El-Sayed, H. S., Hashem, A. M., Mehanna, N. S. 2018.** A synbiotic multiparticulate microcapsule for enhancing inulin intestinal release and *Bifidobacterium* gastro-intestinal survivability. *Carbohydrate Polymers*, 193: 137-143.
- Fazilah, N. F., Ariff, A. B., Khayat, M. E., Rios-Solis, L., Halim, M. 2018.** Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. *Journal of Functional Foods*, 48: 387-399.
- Fernandez, M. A., Fisberg, M., Marette, A. 2017.** Role of yogurt in the nutrition and health of children and adolescents. *In Yogurt in Health and Disease Prevention*, 491-505.
- Fernando, W. M., Flint, S. H., Ranaweera, K. K. D. S., Bamunuarachchi, A., Johnson, S. K., Brennan, C. S. 2018.** The potential synergistic behaviour of inter- and intra-genus probiotic combinations in the pattern and rate of short chain fatty acids

formation during fibre fermentation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 69: 144-154.

Firouzi, S., Haghghatdoost, F. 2018. The effects of prebiotic, probiotic and synbiotic supplementation on blood parameters of renal function: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Nutrition*, 51: 104-113.

Flamm, G., Glinsmann, W., Kritchevsky, D., Prosky, L., Roberfroid, M. 2001. Inulin and oligofructose as dietary fiber: a review of the evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41: 353-362.

Franck, A. 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87: 287-291.

Fu, Y., Sun, X., Zhu, H., Jiang, R., Luo, X., Yin, L. 2018. An optimized fed-batch culture strategy integrated with a one-step fermentation improves l-lactic acid production by *Rhizopus oryzae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34: 74-87.

Furrie, E., Macfarlane, S., Kennedy, A., Cummings, J. H., Walsh, S. V., O'neil, D. A., Macfarlane, G. T. 2005. Synbiotic therapy (*Bifidobacterium longum*/Synergy 1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: a randomised controlled pilot trial. *Gut*, 54: 242-249.

Gahrue, H. H., Eskandari, M. H., Mesbahi, G., Hanifpour, M. A. 2015. Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. *Food Science and Human Wellness*, 4: 1-8.

Gardana, C., Scaglianti, M., Simonetti, P. 2010. Evaluation of steviol and its glycosides in *Stevia rebaudiana* leaves and commercial sweetener by ultra-high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217: 1463-1470.

Gardana, C., Simonetti, P. 2018. Determination of steviol glycosides in commercial extracts of *Stevia rebaudiana* and sweeteners by ultra-high performance liquid chromatography Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1578: 8-14.

Gardana, C., Simonetti, P., Canzi, E., Zanchi, R., Pietta, P. 2003. Metabolism of stevioside and rebaudioside A from *Stevia rebaudiana* extracts by human microflora. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6618-6622.

Geuns, J. M. 2000. Safety of stevia and stevioside. *Recent Research Developments in Phytochemistry*, 4:75-88.

Geuns, J. M., Buyse, J., Vankeirsbilck, A., Temme, E. H. 2007. Metabolism of stevioside by healthy subjects. *Experimental Biology and Medicine*, 232: 164-173.

Gibson, G. R., Probert, H. M., Van Loo, J., Rastall, R. A., Roberfroid, M. B. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17: 259-275.

Gibson, G. R., Probert, H. M., Vanloo, J., Roberfroid, M. B., Rastall, R. A. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17: 259-75.

Giri, A., Rao, H. R., and Ramesh, V. 2014. Effect of partial replacement of sugar with stevia on the quality of kulfi. *Journal of Food Science and Technology*, 51: 1612-1616.

Goderska, K., Nowak, J., Czarnecki, Z. 2008. Comparison of growth of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* species in media supplemented with selected saccharides including prebiotics. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 7: 5-20.

Gomes, J. J. L., Duarte, A. M., Batista, A. S. M., de Figueiredo, R. M. F., de Sousa, E. P., de Souza, E. L. and do Egypto, R. D. C. R. 2013. Physicochemical and sensory

properties of fermented dairy beverages made with goat's milk, cow's milk and a mixture of the two milks. *LWT-Food Science and Technology*, 54: 18-24.

Gopal, P. K. 2011. Encyclopedia of dairy sciences (second edition) lactic acid bacteria *Lactobacillus* spp.: *Lactobacillus acidophilus*. Editors: Foquay, W. F., Fox, P. F., McSweeney, P. L. Academic Press, pp: 91-95.

Goyal, S. K., Samsher, G. R., Goyal, R. K. 2010. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 61: 1-10.

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.

Guggisberg, D., P. Piccinalli, and K. Schreier. 2011. Effects of sugar substitution with Stevia, Actilight and Stevia combinations or Palatinose on rheological and sensory characteristics of low-fat and whole milk set yoghurt. *International Dairy Journal*, 21: 636-644.

Gupta, P., Gupta, N., Pawar, A. P., Birajdar, S. S., Natt, A. S., Singh, H. P. 2013. Role of sugar and sugar substitutes in dental caries: A review. *ISRN Dentistry*, 2013: 519421.

Gupta, R. C. 2016. Nutraceuticals: efficacy, safety and toxicity. Murray State University Press. Hopkinsville KY, USA, 1022 pp.

Gültekin, F. 2017. Tatlandırıcılar, glikoz intoleransı ve mikrobiyota. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 1: 34-38.

Gür, F., Güzel, M., Öncül, N., Yıldırım, Z., Yıldırım, M. 2010. Süt serum proteinleri ve türevlerinin biyolojik ve fizyolojik aktiviteleri. *Akademik Gıda*, 8: 23-31.

Han, X., Wu, H., Yu, P., Zhang, L., Zhao, S., Zhang, L. 2018. Glycine betaine transport conditions of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in salt induced hyperosmotic stress. *International Dairy Journal*, 86: 21-26.

Hassan, A., Amjad, I. 2010. Nutritional evaluation of yoghurt prepared by different starter cultures and their physiochemical analysis during storage. *African Journal of Biotechnology*, 9: 2913-2017.

Heydari, S., Mortazavian, A. M., Ehsani, M. R., Mohammadifar, M. A., Ezzatpanah, H. 2011. Biochemical, microbiological and sensory characteristics of probiotic yogurt containing various prebiotic compounds. *Italian Journal of Food Science*, 23: 153-163.

Hossain, M. A., Siddique, A. B., Rahman, S. M., Hossain, M. A. 2010. Chemical composition of the essential oils of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 5: 56-61.

Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M. R., Yarmand, M. S., Razavi, S. H. 2008. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111: 50-55.

Huebner, J., Wehling, R. L., Hutkins, R. W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, 17: 770-775.

Huebner, J., Wehling, R. L., Parkhurst, A., Hutkins, R. W. 2008. Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, 18: 287-293.

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.

İnanç, A. L., Çınar, İ. 2009. Alternatif doğal tatlandırıcı: Stevia. *Gıda/The Journal of Food*, 34: 411-420.

- Jans, C., Gerber, A., Bugnard, J., Njage, P. M. K., Lacroix, C., Meile, L. 2012.** Novel *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius* variants harboring lactose metabolism genes homologous to *Streptococcus thermophilus*. *Food microbiology*, 31: 33-42.
- 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.
- Jovanovic, S., Barac, M., Macej, O., Vucic, T., Lacnjevac, C. 2007.** SDS-PAGE analysis of soluble proteins in reconstituted milk exposed to different heat treatments. *Sensors*, 7: 371-383.
- Kaplan, H., Hutkins, R. W. 2000.** Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 2682-2684.
- Karimi, R., Azizi, M. H., Ghasemlou, M., Vaziri, M. 2015.** Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydrate Polymers*, 119: 85-100.
- Kaushik, R., Narayanan, P., Vasudevan, V., Muthukumar, G., Usha, A. 2010.** Nutrient composition of cultivated stevia leaves and the influence of polyphenols and plant pigments on sensory and antioxidant properties of leaf extracts. *Journal of Food science and Technology*, 47: 27-33.
- Kırmacı, H. A., Kuşcu, H., ve Atasoy, F. 2014.** Farklı oranlarda prebiyotik lif içeren stevia özünü ilavesinin probiyotik dondurmanın kalite özellikleri etkisi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 18: 48-59.
- Kızılaslan, N., Solak, İ. 2016.** Yoğurt ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 12: 52-59.
- Kim, J. F., Jeong, H., Yu, D. S., Choi, S. H., Hur, C. G., Park, M. S., Kim, D. W., Ji, G. E., Park H. S., Oh, T. K. 2009.** Genome sequence of the probiotic bacterium *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* AD011. *Journal of Bacteriology*, 191: 678-679.
- Kinghorn, A.D. 2003.** *Stevia: The Genus Stevia*. CRC Press: Boca Raton, FL, USA, pp: 224.
- Korbekandi, H., Mortazavian, A. M., Irvani, S. 2011.** Technology and stability of probiotic in fermented milks. Probiotic and prebiotic foods: technology, stability and benefits to the human health, Editors: Shah, N., Cruz, A. G., Faria, J. A. F., Nova Science Publishers, New York, 131-169.
- 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.
- Kovačević, D. B., Barba, F. J., Granato, D., Galanakis, C. M., Herceg, Z., Dragović-Uzelac, V., Putnik, P. 2018.** Pressurized hot water extraction (PHWE) for the green recovery of bioactive compounds and steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *Food Chemistry*, 254: 150-157.
- Koyama, E., Kitazawa, K., Ohori, Y., Izawa, O., Kakegawa, K., Fujino, A., Ui, M. 2003.** *In vitro* metabolism of the glycosidic sweeteners, stevia mixture and enzymatically modified stevia in human intestinal microflora. *Food and Chemical Toxicology*, 41: 359-374.
- Kumar, H., Salminen, S., Verhagen, H., Rowland, I., Heimbach, J., Bañares, S., Lalonde, M. 2015.** Novel probiotics and prebiotics: road to the market. *Current Opinion in Biotechnology*, 32: 99-103.
- Kunová, G., Rada, V., Lisova, I., Ročková, S., Vlková, E. 2011.** In vitro fermentability of prebiotic oligosaccharides by lactobacilli. *Czech Journal of Food Science*, 29: 49-54.

- Lee, C. N., Wong, K. L., Liu, J. C., Chen, Y. J., Cheng, J. T., Chan, P. 2001. Inhibitory effect of stevioside on calcium influx to produce antihypertension. *Planta Medica*, 67: 796-799.
- Lee, S. H., Kwon, J. Y., Jhun, J., Jung, K., Park, S. H., Yang, C. W., Cho, M. L. 2018. *Lactobacillus acidophilus* ameliorates pain and cartilage degradation in experimental osteoarthritis. *Immunology Letters*, 203: 6-14.
- Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Rojas, P., Stucken, K., Delporte, C., Valenzuela-Barra, G., Pasten, A. 2018. Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory potential of *Stevia rebaudiana* leaves: effect of different drying methods. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 11: 37-46.
- Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L., Ah-Hen, K. 2012. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132: 1121-1132.
- Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L., Ah-Hen, K. 2012. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132: 1121-1132.
- Libik-Konieczny, M., Capecka, E., Kałol, E., Dziurka, M., Grabowska-Joachimiak, A., Sliwinska, E., Pistelli, L. 2018. Growth, development and steviol glycosides content in the relation to the photosynthetic activity of several *Stevia rebaudiana* Bertoni strains cultivate under temperate climate conditions. *Scientia Horticulturae*, 234: 10-18.
- Lichtenstein, L., Avni-Biron, I., Ben-Bassat, O. 2016. The current place of probiotics and prebiotics in the treatment of pouchitis. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 30: 73-80.
- Lisak, K., Jeličić, I., Tratnik, L., Božanić, R. 2011. Influence of sweetener stevia on the quality of strawberry flavoured fresh yoghurt. *Mljekarstvo*, 61: 220-225.
- Lisak, K., M. Lenc, I. Jeličić, and R. Božanić. 2012. Sensory evaluation of the strawberry flavored yoghurt with stevia and sucrose addition. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 7: 39-43.
- Liu, Q., Duan, Z. P., Ha, D. K., Bengmark, S., Kurtovic, J., Riordan, S. M. 2004. Synbiotic modulation of gut flora: effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Hepatology*, 39: 1441-1449.
- Lopes, S. M., Krausová, G., Rada, V., Gonçalves, J. E., Gonçalves, R. A., de Oliveira, A. J. 2015. Isolation and characterization of inulin with a high degree of polymerization from roots of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *Carbohydrate Research*, 411: 15-21.
- Lourens-Hattingh, A., Viljoen, B. C. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11: 1-17.
- Lucey, J. A. 2001. The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. *Food Hydrocolloids*, 15: 603-608.
- Lugli, G. A., Mangifesta, M., Duranti, S., Anzalone, R., Milani, C., Mancabelli, L., Ventura, M. 2018. Phylogenetic classification of six novel species belonging to the genus *Bifidobacterium* comprising *Bifidobacterium anseris* sp. nov., *Bifidobacterium criceti* sp. nov., *Bifidobacterium imperatoris* sp. nov., *Bifidobacterium italicum* sp. nov., *Bifidobacterium margollesii* sp. nov. and *Bifidobacterium parmae* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 41: 173-183.

- Madan, S., Ahmad, S., Singh, G. N., Kohli, K., Kumar, Y., Singh, R., Garg, M. 2010.** *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni-A Review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 1: 267-286.
- Mahmoudi, F., Miloud, H., Bettache, G., and Mebrouk, K. 2013.** Identification and physiological properties of *Bifidobacterium* strains isolated from different origin. *Journal of Food Science and Engineering*, 3: 196-206.
- Martinez-Gonzalez, M. A., Sayon-Orea, C., Ruiz-Canela, M., De la Fuente, C., Gea, A., Bes-Rastrollo, M. 2014.** Yogurt consumption, weight change and risk of overweight/obesity: the SUN cohort study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 24: 1189-1196.
- Marx, S. P., Winkler, S., Hartmeier, W. 2000.** Metabolization of β -(2, 6)-linked fructose-oligosaccharides by different bifidobacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 182: 163-169.
- Mazahreh, A. S., Ershidat, O. T. M. 2009.** The benefits of lactic acid bacteria in yogurt on the gastrointestinal function and health. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8: 1404-1410.
- McCain, H. R., Kaliappan, S., Drake, M. A. 2018.** Invited review: Sugar reduction in dairy products. *Journal of Dairy Science*, 101: 8619-8640.
- McFarland, L. V. 2015.** From yaks to yogurt: the history, development, and current use of probiotics. *Clinical Infectious Diseases*, 60: 85-90.
- 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.
- Meyer, D., Stasse-Wolthuis, M. 2009.** The bifidogenic effect of inulin and oligofructose and its consequences for gut health. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63: 1277-1289.
- Misselwitz, B., Pohl, D., Frühauf, H., Fried, M., Vavricka, S. R., Fox, M. 2013.** Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. *United European Gastroenterology Journal*, 1: 151-159.
- Mohammadi, R., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M. 2012.** The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks. *Engineering in Life Sciences*, 12: 399-409.
- Molina-Calle, M., Priego-Capote, F., de Castro, M. L. 2017.** Characterization of *Stevia* leaves by LC-QTOF MS/MS analysis of polar and non-polar extracts. *Food Chemistry*, 219: 329-338.
- Morelli, L. 2007.** *In vitro* assessment of probiotic bacteria: from survival to functionality. *International Dairy Journal*, 17: 1278-1283.
- Muelas, R., de Olives, A. M., Romero, G., Díaz, J. R., Sayas-Barberá, M. E., Sendra, E. 2018.** Evaluation of individual lactic acid bacteria for the fermentation of goat milk: Quality parameters. *LWT-Food Science and Technology*, 98: 506-514.
- Narayanan, P., Chinnasamy, B., Jin, L. Clark, S. 2014.** Use of just-about-right scales and penalty analysis to determine appropriate concentrations of stevia sweeteners for vanilla yogurt. *Journal Dairy Science*, 97: 3262-3272.
- Ng, E. W., Yeung, M., Tong, P. S. 2011.** Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, 145: 169-175.
- 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.
- Nowroozi, J., Mirzaii, M., Norouzi, M. 2004.** Study of *Lactobacillus* as probiotic bacteria. *Iranian Journal of Public Health*, 33: 1-7.

- Oflaherty, S., Klaenhammer, T. R. 2010.** The role and potential of probiotic bacteria in the gut, and the communication between gut microflora and gut/host. *International Dairy Journal*, 20: 262-268.
- Olson, D. W., Aryana, K. J. 2012.** Effect of prebiotics on *Lactobacillus acidophilus* growth and resulting pH changes in skim milk and a model peptone system. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 4: 121-125.
- Ozcan, T., Yilmaz-Ersan, L., Akpınar-Bayizit, A., Delikanli, B. 2017.** Antioxidant properties of probiotic fermented milk supplemented with chestnut flour (*Castanea sativa* Mill). *Journal of Food Processing and Preservation*, 41: 131-156.
- Özcan, T., Yılmaz-Ersan, L., Akpınar-Bayizit, A., Delikanlı, B., Eroğlu, E. 2017.** Stevia ve şeker içeriği azaltılmış süt ürünlerinde kullanımı. 1. Ulusal Sütçülük Kongresi, 26-27 Mayıs 2017, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ankara.
- Ozcan, T., Yilmaz-Ersan, L., Akpınar-Bayizit, A., Delikanli-Kiyak, B. 2017.** Using of stevia as non-caloric sugar substitutes on viability of probiotic bacteria *Lactobacillus casei*. Proceedings of 68th The IRES International Conference, 11-12 May 2017, Lisbon, Portugal.
- Ozdemir, C., Arslaner, A., Ozdemir, S., Allahyari, M. 2015.** The production of ice cream using stevia as a sweetener. *Journal of Food Science and Technology*, 52: 7545-7548.
- Özcan, T., Akpınar-Bayizit, A., Yılmaz-Ersan, L.** Probiyotik süt ürünlerinde bifidojenik faktör olarak inülin. 7. Ulusal Sağlıklı Yaşam Sempozyumu, 12-15 Nisan 2018, İstanbul.
- Özcan, T. 2012.** Fonksiyonel süt ürünleri ve sağlıklı yaşam. *Tarım Türk Dergisi*, 38: 156-160.
- Özdemir, D., Başer, H., Çakır, B. 2014.** Tatlandırıcılar. *Türkiye Klinikleri Journal of Endocrinology*, 9: 60-70.
- Özden, A. 2008.** Yoğurdun tarihi. *Güncel Gastroenteroloji*, 12: 128-133.
- Özden A., 2013.** Probiyotik “Sağlıklı Yaşam İçin Yararlı Dost Bakteriler”. *Güncel Gastroenteroloji*, 17/1: 22-38.
- Pacifico, S., Piccolella, S., Nocera, P., Tranquillo, E., Dal Poggetto, F., Catauro, M. 2019.** New insights into phenol and polyphenol composition of *Stevia rebaudiana* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 163: 45-57.
- Pedreschi, R., Campos, D., Noratto, G., Chirinos, R., Cisneros-Zevallos, L. 2003.** Andean yacon root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 5278-5284.
- 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.
- Petit, E., Jacques, A., Daydé, J., Vallejo, V., Berger, M. 2018.** UGT76G1 polymorphism in *Stevia rebaudiana*: New variants for steviol glycosides conjugation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 135: 563-569.
- Pina-Pérez, M. C., Rivas, A., Martínez, A., Rodrigo, D. 2018.** Effect of thermal treatment, microwave, and pulsed electric field processing on the antimicrobial potential of açai (*Euterpe oleracea*), stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) and ginseng (*Panax quinquefolius* L.) extracts. *Food Control*, 90: 98-104.

- Pires, T. C., Dias, M. I., Barros, L., Barreira, J. C., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. 2018.** Incorporation of natural colorants obtained from edible flowers in yogurts. *LWT*, 97: 668-675.
- Playne, M. J. and Crittenden, R. G. 2009.** Galacto-oligosaccharides and other products derived from lactose: Advanced Dairy Chemistry: Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents. Editors: McSweeney, P. L. and Fox, P. F. Springer Science & Business Media, New York, USA, pp: 121-203.
- Poothong, S., Khen, T., Chumphukam, O. 2018.** *In vitro* mineral nutrition for improving growth and multiplication of stevia. *Agriculture and Natural Resources*, 52: 477-483.
- Pourahmad, R., Khorramzadeh, D. 2016.** Physicochemical and organoleptic properties of drinking powder containing soy milk powder, stevia, isomalt and erythritol. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40: 1206-1214.
- Presti, I., D’Orazio, G., Labra, M., La Ferla, B., Mezzasalma, V., Bizzaro, G., Giardina, S., Michelotti, A., Tursi, F., Vassallo, M., Di Gennaro, P. 2015.** Evaluation of the probiotic properties of new *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains and their in vitro effect. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99: 5613-5626.
- Priya, K., Gupta, V. R. M., Srikanth, K. 2011.** Natural sweeteners: A complete review. *Journal of Research in Pharmacy*, 4: 2034-2039.
- Puri, M., Sharma, D., Tiwari, A. K. 2011.** Down stream processing of stevioside and its potential applications. *Biotechnology Advances*, 29: 781-791.
- Purkayastha, S., Markosyan, A., Prakash, I., Bhusari, S., Pugh Jr, G., Lynch, B., Roberts, A. 2016.** Steviol glycosides in purified stevia leaf extract sharing the same metabolic fate. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 77: 125-133.
- Purwandari, U., Shah, N. P., Vasiljevic, T. 2007.** Effects of exopolysaccharide-producing strains of *Streptococcus thermophilus* on technological and rheological properties of set-type yoghurt. *International Dairy Journal*, 17: 1344-1352.
- Puvanenthiran, A., Williams, R. P. W., Augustin, M. A. 2002.** Structure and viscoelastic properties of set yoghurt with altered casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*, 12: 383-391.
- Quigley, E. M. M. 2017.** *Bifidobacterium animalis* spp. lactis: The microbiota in gastrointestinal pathophysiology, Editors: Floch M. H., Ringel Y., Walker W. A., Academic Press, pp: 127-130.
- Rad, A. H., Delshadian, Z., Arefhosseini, S. R., Alipour, B. and Jafarabadi, M. A. 2012.** Effect of inulin and stevia on some physical properties of chocolate milk. *Health Promotion Perspectives*. 2: 42-47.
- Ramos-Tovar, E., Muriel, P. 2017.** Stevia as a putative hepatoprotector: Liver Pathophysiology Therapies and Antioxidants, Editor: Muriel, P., Elsevier, pp: 715-727.
- Ranasinghe, J. G. S., Perera, W. T. R. 2016.** Prevalence of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* stability in commercially available yogurts in Sri Lanka. *Asian Journal of Medical Sciences (E-ISSN 2091-0576; P-ISSN 2467-9100)*, 7: 97-101.
- Reis, R. C., Minim, V. P. R., Bolini, H. M. A., Dias, B. R. P., Minim, L. A., and Ceresino, E. B. 2011.** Sweetness equivalence of different sweeteners in strawberry-flavored yogurt. *Journal of Food Quality*, 34: 163-170.
- Rezazadeh, A., Shahabi, S., Bagheri, M., Nabizadeh, E., Jazani, N. H. 2018.** The protective effect of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* as the gut microbiota members against chronic urticaria. *International Immunopharmacology*, 59: 168-173.

- Rizwan, F., Rashid, H. U., Yesmine, S., Monjur, F., Chatterjee, T. K. 2018.** Preliminary analysis of the effect of Stevia (*Stevia rebaudiana*) in patients with chronic kidney disease (stage I to stage III). *Contemporary Clinical Trials Communications*, 12: 17-25.
- Rizzoli, R., Biver, E. 2017.** Yogurt consumption and impact on bone health: Yogurt in health and disease prevention, Editor: Shah N. P., Academic Press, pp: 507-524.
- Roberfroid, M. 2007.** Prebiotics: the concept revisited. *The Journal of Nutrition*, 137: 830-837.
- Roberfroid, M. B., Van Loo, J. A., Gibson, G. R. 1998.** The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *The Journal of Nutrition*, 128: 11-19.
- Rogers, P. J., Hogenkamp, P. S., De Graaf, C., Higgs, S., Lluch, A., Ness, A. R., Mela, D. J. 2016.** Does low-energy sweetener consumption affect energy intake and body weight? A systematic review, including meta-analyses, of the evidence from human and animal studies. *International Journal of Obesity*, 40: 381-394.
- Rouhani, M. H., Hadi, A., Ghaedi, E., Salehi, M., Mahdavi, A., Mohammadi, H. 2018.** Do probiotics, prebiotics and synbiotics affect adiponectin and leptin in adults? A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Clinical Nutrition*, 37: 1-7.
- 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.
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J. M., Bressollier, P. 2013.** An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT-Food Science and Technology*, 50: 1-16.
- Sahan, N., Yasar, K., Hayaloglu, A. A. 2008.** Physical, chemical and flavour quality of non-fat yogurt as affected by a β -glucan hydrocolloidal composite during storage. *Food Hydrocolloids*, 22: 1291-1297.
- Salazar, N., Dewulf, E. M., Neyrinck, A. M., Bindels, L. B., Cani, P. D., Mahillon, J., Delzenne, N. M. 2015.** Inulin-type fructans modulate intestinal *Bifidobacterium* species populations and decrease fecal short-chain fatty acids in obese women. *Clinical Nutrition*, 34: 501-507.
- Salazar, V. A. G., Encalada, S. V., Cruz, A. C., Campos, M. R. S. 2018.** *Stevia rebaudiana*: A sweetener and potential bioactive ingredient in the development of functional cookies. *Journal of Functional Foods*, 44: 183-190.
- Salvador, A., Fiszman, S. M. 2004.** Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavored set-type yogurt during long storage. *Journal of Dairy Science*, 87: 4033-4041.
- Sanz, Y. 2007.** Ecological and functional implications of the acid-adaptation ability of *Bifidobacterium*: a way of selecting improved probiotic strains. *International Dairy Journal*, 17: 1284-1289.
- Savita, S. M., Sheela, K., Sunanda, S., Shankar, A. G., Ramakrishna, P. 2004.** *Stevia rebaudiana*-A functional component for food industry. *Journal of Human Ecology*, 15: 261-264.
- Sezen, A. G. 2013.** Prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotiklerin insan ve hayvan sağlığı üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8: 248-258.
- Shah, N. P. 2000.** Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83: 894-907.
- Shah, N. P. 2006.** Health benefits of yogurt and fermented milks: Manufacturing yogurt and fermented milks, Editor: Chandan R. C., pp: 327-351.

- Shahverdi, M. A., Omid, H., Tabatabaei, S. J. 2017.** Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) responses to NaCl stress: Growth, photosynthetic pigments, diterpene glycosides and ion content in root and shoot. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16: 205-298.
- Shalini, R., Abinaya, G., Saranya, P., Antony, U. 2017.** Growth of selected probiotic bacterial strains with fructans from Nendran banana and garlic. *LWT-Food Science and Technology*, 83: 68-78.
- Shihata, A., Shah, N. P. 2000.** Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 10: 401-408.
- 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.
- Shu, G., Wang, Z., Chen, L., Wan, H., Chen, H. 2018.** Characterization of freeze-dried *Lactobacillus acidophilus* in goat milk powder and tablet: Optimization of the composite cryoprotectants and evaluation of storage stability at different temperature. *LWT*, 90: 70-76.
- Shuler, M.L., Kargi, F., 2005.** Bioprocess Engineering: Basic Concepts. Pearson Education, Singapore, 553 pp.
- Sims, I. M., Ryan, J. L., Kim, S. H. 2014.** In vitro fermentation of prebiotic oligosaccharides by *Bifidobacterium lactis* HN019 and *Lactobacillus* spp. *Anaerobe*, 25: 11-17.
- Singh, M., Kim, S. 2009.** Yogurt fermentation in the presence of starch-lipid composite. *Journal of Food Science*, 74: 85-89.
- Singh, P., Medronho, B., dos Santos, T., Nunes-Correia, I., Granja, P., Miguel, M. G., Lindman, B. 2018.** On the viability, cytotoxicity and stability of probiotic bacteria entrapped in cellulose-based particles. *Food Hydrocolloids*, 82: 457-465.
- Singh, P., Medronho, B., Valente, a. J., Miguel, M. G., Lindman, B. 2018.** Exploring the prebiotic effect of cyclodextrins on probiotic bacteria entrapped in carboxymethyl cellulose-chitosan particles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 168: 156-162.
- Singdevsachan, S. K., Auroshree, P., Mishra, J., Baliyarsingh, B., Tayung, K., Thatoi, H. 2016.** Mushroom polysaccharides as potential prebiotics with their antitumor and immunomodulating properties: A review. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 7: 1-14.
- Slavin, J. 2013.** Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5: 1417-1435.
- Sodini, I., Remeuf, F., Haddad, S., Corrieu, G. 2004.** The relative effect of milk base, starter, and process on yogurt texture: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 113-137.
- Su, P., Henriksson, A., Mitchell, H. 2007.** Selected prebiotics support the growth of probiotic mono-cultures in vitro. *Anaerobe*, 13: 134-139.
- Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P., Kailasapathy, K. 2000.** Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*, 62: 47-55.
- Swithers, S.E. 2013.** Artificial sweeteners produce the counter intuitive effect of inducing metabolic derangements. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 24: 431-441.
- Sylvetsky, A.C., Rother, K.I. 2016.** Trends in the consumption of low-calorie sweeteners. *Physiology and Behavior*, 164: 446-450.

- Talon, R., Walter, D., Viallon, C., Berdagué, J. L. 2002.** Prediction of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* populations in yoghurt by Curie point pyrolysis-mass spectrometry. *Journal of Microbiological Methods*, 48: 271-279.
- Talwalkar, A., Kailasapathy, K. 2004.** The role of oxygen in the viability of probiotic bacteria with reference to *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 5: 1-8.
- Tamime, A. Y., Robinson, R. K. 2007.** Tamime and Robinson's yoghurt science and technology. Elsevier Incorporation, England, 349 pp.
- 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.
- Téllez, M. C., Figueroa, I. P., Téllez, B. C., Vidaña, E. C. L., Ortiz, A. L. 2018.** Solar drying of Stevia (*Rebaudiana Bertoni*) leaves using direct and indirect technologies. *Solar Energy*, 159: 898-907.
- Thuaytong, W., Anprung, P. 2011.** Bioactive compounds and prebiotic activity in Thailand-grown red and white guava fruit (*Psidium guajava* L.). *Food Science and Technology International*, 17: 205-212.
- 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.
- Topping, D. L., Fukushima, M., Bird, A. R. 2003.** Resistant starch as a prebiotic and synbiotic: state of the art. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62: 171-176.
- 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.
- Tunick, M. H. 2000.** Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. *Journal of Dairy Science*, 83: 1892-1898.
- Uriot, O., Denis, S., Junjua, M., Roussel, Y., Dary-Mourot, A., Blanquet-Diot, S. 2017.** *Streptococcus thermophilus*: From yogurt starter to a new promising probiotic candidate?. *Journal of Functional Foods*, 37: 74-89.
- Usta, B., Yılmaz-Ersan, L., Özcan, T. 2015.** Prebiyotik etkinin değerlendirilmesinde nicel yaklaşımlar. II. İç Anadolu Tarım ve Gıda Kongresi, 28-30 Nisan 2015, Kapadokya, Nevşehir.
- Van der Meulen, R., Avonts, L., Vuyst, L. D. 2004.** Short fractions of oligofructose are preferentially metabolized by *Bifidobacterium animalis* DN-173 010. *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 1923-1930.
- Vandenplas, Y. 2016.** Probiotics and prebiotics in infectious gastroenteritis. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 30: 49-53.
- Varzakas, T., Kandylis, P., Dimitrellou, D., Salamoura, C., Zakynthinos, G., Proestos, C. 2018.** Innovative and fortified food: Probiotics, prebiotics, GMOs, and super food: Preparation and Processing of Religious and Cultural Foods, Editors: Ali E., Nizar N. N. A., Woodhead Publishing, pp: 67-129.

- Vasiljevic, T., Shah, N. P. 2008.** Probiotics-from Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18: 714-728.
- Verruma-Bernardi, M. R., Lee, K., Liu, S. Q., and Bordi Jr, P. L. 2014.** Chocolate milk with sucrose and stevia preference by pre-and post-menopausal women. *Food and Nutrition Sciences*, 5: 1352-1358.
- Verruma-Bernardi, M. R., Lee, K., Palchak, T., and Bordi, P. L. 2015.** Chocolate milk sweetened with stevia: acceptance by children. *Journal of Obesity and Overweight*, 1: 103-107.
- Vinogradov, E., Sadovskaya, I., Cornelissen, A., van Sinderen, D. 2015.** Structural investigation of cell wall polysaccharides of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 17. *Carbohydrate Research*, 413: 93-99.
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Wang, C. 2010.** *In vitro* fermentation of xylooligosaccharides from wheat bran in soluble dietary fiber by *Bifidobacteria*. *Carbohydrate Polymers*, 82: 419-423.
- Wang, T., Xu, Z., Lu, S., Xin, M., Kong, J. 2016.** Effects of glutathione on acid stress resistance and symbiosis between *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *International Dairy Journal*, 61: 22-28.
- Weber, A., Hekmat, S. 2013.** The effect of *Stevia rebaudiana* on the growth and survival of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and sensory properties of probiotic yogurt. *Journal of Food Research*, 2: 136-143.
- Weerathilake, W. A. D. V., Rasika, D. M. D., Ruwanmali, J. K. U., Munasinghe, M. A. D. D. 2014.** The evolution, processing, varieties and health benefits of yogurt. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4: 1-10.
- Weihrauch, M. R., Diehl, V. 2004.** Artificial sweeteners-do they bear a carcinogenic risk?. *Annals of Oncology*, 15: 1460-1465.
- Winzenberg, T., Shaw, K., Fryer, J., Jones, G. 2007.** Calcium supplements in healthy children do not affect weight gain, height, or body composition. *Obesity*, 15: 1789-1798.
- Yadav, R., Dey, D. K., Vij, R., Meena, S., Kapila, R., Kapila, S. 2018.** Evaluation of anti-diabetic attributes of *Lactobacillus rhamnosus* MTCC: 5957, *Lactobacillus rhamnosus* MTCC: 5897 and *Lactobacillus fermentum* MTCC: 5898 in streptozotocin induced diabetic rats. *Microbial Pathogenesis*, 125: 454-462.
- Yahfoufi, N., Mallet, J. F., Graham, E., Matar, C. 2018.** Role of probiotics and prebiotics in immunomodulation. *Current Opinion in Food Science*, 20: 82-91.
- Yang, K., Xu, M., Zhong, F., Zhu, J. 2018.** Rapid differentiation of *Lactobacillus* species via metabolic profiling. *Journal of Microbiological Methods*, 154: 147-155.
- Yilmazer, M., Seçilmiş, H. 2006.** Gaz kromatografisi headspace sistemi ile süt ürünlerinde bazı aroma bileşenlerinin analizi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu.
- Yılmaz-Ersan, L., Özcan, T., Akpınar-Bayizit, A., Delikanlı, B. 2016.** Bifidojenik faktör olarak laktoz türevlerinin önemi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 30: 79-90.
- Yildiz, E., Özcan, T. 2019.** Functional and textural properties of vegetable-fibre enriched yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 70: 1-9. doi: 10.1111/1471-0307.12566.
- Yoneda, Y., Shimizu, H., Nakashima, H., Miyasaka, J., Ohdoi, K. 2018.** Effect of treatment with gibberellin, gibberellin biosynthesis inhibitor, and auxin on steviol glycoside content in *Stevia rebaudiana* bertonii. *Sugar Tech*, 20: 482-491.

- Yu, X., Yin, J., Li, L., Luan, C., Zhang, J., Zhao, C., Li, S. 2015.** Prebiotic potential of xylooligosaccharides derived from corn cobs and their in vitro antioxidant activity when combined with *Lactobacillus*. *Journal of Microbiol Biotechnology*, 25: 1084-1092.
- Zhang, Q., Yang, H., Li, Y., Liu, H., Jia, X. 2017.** Toxicological evaluation of ethanolic extract from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves: Genotoxicity and subchronic oral toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 86: 253-259.
- Zhang, S., Hu, H., Wang, L., Liu, F., Pan, S. 2018.** Preparation and prebiotic potential of pectin oligosaccharides obtained from citrus peel pectin. *Food Chemistry*, 244: 232-237.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ezgi EROĞLU
Doğum Yeri ve Tarihi : Koyulhisar / 24.07.1993
Yabancı Dil : İngilizce
Eğitim Durumu
Lise : Sivas Lisesi (2006-2011)
Lisans : Uludağ Üniversitesi (2011-2016)
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi (2017-2019)
Çalıştığı Kurum/Kurumlar : -Uludağ Üniversitesi İznik MYO
Görevlendirmeli Öğretim Görevlisi (09.2016-06.2017)
-Yunusef İnşaat Nakliyat Temizlik Medikal Gıda
Taahhüt Enerji Mühendislik Madencilik Sanayi Ticaret
LTD Şirketi
Gıda Mühendisi
(09.2016-11.2016)
İletişim (e-posta) : ezgieroglu1@gmail.com
Yayınlar :

Özcan, T., Yılmaz-Ersan, L., Akpınar-Bayizit, A., Delikanlı, B., Eroğlu, E. 2017. Stevia ve şeker içeriği azaltılmış süt ürünlerinde kullanımı. 1. Ulusal Sütçülük Kongresi, 26-27 Mayıs 2017, 67, Ankara.

Yılmaz-Ersan, L., Ozcan, T., Akpınar-Bayizit, A., Usta, B., Kandil, M., Eroglu, E. 2018. The effect of gums on the growth of *Bifidobacterium longum*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27: 4270-4276.

Özcan, T., Eroğlu, E. 2018. Sütün Enzimatik Koagülasyonu ve Peynir Üretiminde Bitkisel Pıhtılaştırıcılar. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32: 201-214.