

**BAZI *BIFIDOBACTERIUM* TÜRLERİNİN GELİŞMESİ
ÜZERİNE SALEP TOZUNUN ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Buse USTA



T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI *BIFIDOBACTERIUM* TÜRLERİNİN GELİŞMESİ ÜZERİNE SALEP
TOZUNUN ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Buse USTA

Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA-2015

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI *BIFIDOBACTERIUM* TÜRLERİNİN GELİŞMESİ ÜZERİNE SALEP TOZUNUN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

BUSE USTA

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN

Bu çalışmada, ülkemizde yetiştirilen Kastamonu yöresine ait orkide türlerinden elde edilen salep tozunun bazı *Bifidobacterium* türlerinin gelişmesi üzerine etkisi, *in vitro* koşullarda belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan *Bifidobacterium* türleri firma tarafından önerilen bazal gelişme ortamı ve Tripton Pepton Maya Ekstraktı (TPY) kullanılarak aktif hale getirilmiştir. Salep tozunun %2,5'lük solüsyonları hazırlanarak filtre sterilizasyon işlemi uygulanmış ve steril substrat solüsyonları son konsantrasyonu %0,5, %1, %2 ve aktive edilen *Bifidobacterium* türleri oranı %2 olacak şekilde TPY sıvı besiyerine ilave edilerek 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Salep tozu içeren bazal ortamda geliştirilen kültürlerden, prebiyotik fermentasyonun 0., 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde örnekler alınmıştır. Ayrıca hiç karbonhidrat içermeyen ve %1 oranında glukoz içeren örnekler kontrol numunesi olarak kullanılmıştır. Bu örneklerde pH, hücre yoğunluğu (OD₆₀₀), prebiyotik aktivite sayısı (PAS), spesifik gelişme oranı (μ), kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) miktarı (g/L), laktik asidin toplam KZYA 'ya oranı değerleri belirlenmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde, salep tozunun *Bifidobacterium* türlerinin gelişmesini desteklediği, prebiyotik fermentasyon süresince pH değerlerinin düştüğü ve besi ortamındaki hücre yoğunluğu değerlerinin yükseldiği saptanmıştır. En düşük pH ve en yüksek hücre yoğunluğu değerlerinin besi ortamında *B. infantis* varlığında elde edildiği tespit edilmiştir. Fermentasyon süresince üretilen kısa zincirli yağ asitlerini büyük oranda laktik ve asetik asit ile daha düşük miktarlarda propiyonik ve bütirik asit oluşturmaktadır. *Bifidobacterium* türleri tarafından üretilen toplam kısa zincirli yağ asidi miktarı incelendiğinde en yüksek değerler *B. infantis* içeren besi ortamlarında belirlenmiştir ($p < 0,01$).

Sonuç olarak, salep tozunun *Bifidobacterium* türlerinin gelişmesi/aktivitesi üzerine olumlu etki gösterdiği farklı çalışmalarla da desteklenerek prebiyotik potansiyele sahip bileşen olarak kullanılabilirliği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Salep tozu, *Bifidobacterium*, prebiyotik

2015, x + 99 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATION OF IMPACT OF SALEP POWDER ON GROWTH OF SOME *BIFIDOBACTERIUM* SPECIES

BUSE USTA

Uludag University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN

In this study, the influence of salep powder obtained from *Orchideae* species grown in Kastamonu region, on the growth of *Bifidobacterium* species *in vitro* condition system was investigated.

Bifidobacterium species used for the study was activated using basal growth medium and tryptone peptone yeast extract (TPY) according to the procedures defined by the processor. Stock solution of salep powder was prepared at a concentrational (w/v) 2,5 % and filter-sterilized using Millipore filter-sterilization system. Sterile substrate solutions at final concentrations 0,5; 1; 2 and activated *Bifidobacterium* species (2 %) were added to TPY broth medium and incubated at 37°C for 48 h⁻¹. Samples were taken from cultures grown on basal medium supplemented with salep powder at 0., 12., 24., 36. and 48. hours of prebiotic fermentation. Furthermore, a solution containing no carbohydrate and a solution with 1 % glucose were used as control samples. For each sample; pH, optic density (OD₆₀₀), prebiotic activity score (PAS), specific growth rate (μ), short chain fatty acids (SCFA) (g/L) content and lactic acid to total SCFA value were determined.

By the addition of salep powder to TPY broth; growth of *Bifidobacterium* species were stimulated; the pH values were decreased during prebiotic fermentation whereas cell density values were increased. The lowest value of pH and the highest value of cell density results were obtained from TPY medium at the presence of *B. infantis*. The predominant short chain fatty acids produced during prebiotic fermentation were lactic and acetic acids followed by propionic and butiric acids. The highest production of short chain fatty acid among *Bifidobacterium* species were determined at TPY broth containing *B. infantis* (p< 0,01).

On the basis of data obtained salep powder seem to present potential prebiotic activity with stimulated growth of *Bifidobacterium* species, however, more studies on prebiotic use of salep need to be performed.

Key words: Salep powder, *Bifidobacterium*, prebiotic

2015, x + 99 pages

TEŞEKKÜR

Uludağ Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümündeki Yüksek lisans eğitimim boyunca tüm desteğiyle yanımda olan, tez çalışmamın tüm aşamalarında bilgi ve tecrübesiyle yardımını esirgemeyen sevgili danışman hocam Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmama değerli bilgi ve görüşleriyle katkıda bulunan hocalarım Doç. Dr. Tülay ÖZCAN, Doç. Dr. Arzu AKPINAR-BAYİZİT, Yrd. Doç. Dr. Ayşegül KUMRAL ve Araş. Gör. Elif YILDIZ'a teşekkür ederim. Yüksek lisans bitirme sınavında davetimizi kırmayıp jüri üyesi olarak katılan Afyon Kocatepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Gökhan AKARCA'ya teşekkür ederim.

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

Çalışmam sırasında kısa zincirli yağ asitleri analizlerinin gerçekleştirilmesinde yardım ve desteklerinden dolayı Akdeniz Üniversitesi, Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi Müdürü Prof. Dr. Mehmet İNAN ve analiz uzmanı İ. Burak ÇAM'a, teşekkür ederim.

Bu zorlu süreçte desteğini her daim hissettiğim, yardımlarını esirgemeyen Erman GÖRGÜN'e, yaşamım boyunca maddi ve manevi desteğini ve karşılıksız sevgisini hiçbir zaman eksik etmeyen sevgili annem Sema USTA ve babam Aygün USTA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Buse USTA

Gıda Mühendisi

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	Yüzde –Değer
°C	Santigrat Derece
G	Gram
L	Litre
ml	Mililitre
mm	Mikrometre
µl	Mikrolitre
N	Normal
mmol/L	Milimol/Litre
g/L	Gram/Litre
µ	Spesifik gelişme oranı
Nm	Nanometre
Dk	Dakika
CO ₂	Karbondioksit
H ₂	Hidrojen
H ₂ SO ₄	Sülfirik Asit
H ₂ S	Hidrojen Sülfür

Açıklama

Kısaltmalar

FOS	Fruktooligosakkaritler
GOS	Galaktooligosakkariter
TOS	Transoligosakkaritler
İMO	İzomaltooligosakkaritler
KOS	Ksilooligosakkaritler
MOS	Mannanoligosakkaritler
SOS	Soyaoligosakkaritleri
TPY	Tripton Pepton Maya Ekstrakt
IBS	Irritabl Bağırsak Sendromu
IBD	İltihabi Bağırsak Hastalığı
GİS	Gastrointestinal Sistem
PI	Prebiyotik İndeks
PI _m	Düzeltilmiş Prebiyotik İndeks
PAS	Prebiyotik Aktivite Sayısı
MPE	Prebiyotik etki
KZYA	Kısa Zincirli Yağ Asitleri
OD	Optik Yoğunluk
FISH	Floresan In Situ Hibridizasyon

Açıklama

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Prebiyotik tüketiminin etkileri	2
Şekil 1.1.1. Probiyotik mikroorganizmaların sağlık üzerine olumlu etkileri	9
Şekil 2.1.2. <i>Bifidobacterium</i> türlerinin morfolojik yapısı	11
Şekil 2.2.1. Prebiyotiklerin fermentasyonu ve sağlık üzerine olumlu etkileri	14
Şekil 2.2.2. Prebiyotikler bileşenler	16
Şekil 2.3.1. <i>Orchidaceae</i> familyasına ait orkide türleri	20
Şekil 4.1.1. Fermentasyon süresince <i>Bifidobacterium</i> türlerinin salep tozu içeren besi ortamındaki pH değerleri	50
Şekil 4.2.1. Fermentasyon süresince <i>Bifidobacterium</i> türlerinin salep tozu içeren besi ortamındaki hücre yoğunluğu değerleri	55
Şekil 4.3.1. <i>Bifidobacterium</i> türleri için prebiyotik aktivite sayısı (PAS)	58
Şekil 4.4.1. <i>Bifidobacterium</i> türleri için spesifik gelişme oranları	60
Şekil 4.5.1.1. <i>Bifidobacterium</i> türlerinin fermentasyon süresince ürettikleri laktik asit miktarları	63
Şekil 4.5.2.1. <i>Bifidobacterium</i> türlerinin fermentasyon süresince ürettikleri asetik asit miktarları	67
Şekil 4.5.3.1. <i>Bifidobacterium</i> türlerinin fermentasyon süresince ürettikleri propiyonik asit miktarları	70
Şekil 4.5.4.1. <i>Bifidobacterium</i> türlerinin fermentasyon süresince ürettikleri bütirik asit miktarları	73

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.2.1. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar	7
Çizelge 2.2.1. Prebiyotik gıda kaynakları	15
Çizelge 2.3.1. Türkiye’de salep elde edilen orkide cins ve türleri ile yetiştiği bölgeler	21
Çizelge 2.3.2. Türkiyenin farklı bölgelerinden toplanan salep tozlarının kimyasal kompozisyonları	23
Çizelge 3.1.1. <i>Bifidobacterium</i> türleri için bazal gelişme ortamı ve Tripton Pepton Maya Ekstraktı sıvı besiyeri bileşimi	44
Çizelge 3.1.2. Çalışmada kullanılan salep tozunun bileşimi	44
Çizelge 3.2.1.1. Bazı <i>Bifidobacterium</i> türleri tarafından salep tozunun fermentasyonu deneme deseni	46
Çizelge 4.1.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin pH değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları	51
Çizelge 4.1.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin pH değerlerine etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	52
Çizelge 4.1.3. Fermentasyon süresince salep tozu içeren besi ortamlarında asitlik gelişimine <i>Bifidobacterium</i> türlerinin etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	53
Çizelge 4.2.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin hücre yoğunluğu değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları	55
Çizelge 4.2.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin hücre yoğunluğu değerlerine etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	56
Çizelge 4.2.3. Fermentasyon süresince salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin hücre yoğunluğu değerlerine etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	57
Çizelge 4.3.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin PAS değerleri etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları	59
Çizelge 4.3.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin PAS değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	59
Çizelge 4.4.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin spesifik gelişme oranı değerleri etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları	61
Çizelge 4.4.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin spesifik gelişme oranı değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	61

Çizelge 4.5.1.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin laktik asit miktarları etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları	64
Çizelge 4.5.1.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin laktik asit miktarları etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	65
Çizelge 4.5.1.3. Fermentasyon süresince salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin laktik asit miktarları etkisine ilişkin LSD testi sonuçları..	66
Çizelge 4.5.2.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin asetik asit değerleri etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları	67
Çizelge 4.5.2.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin asetik asit değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	68
Çizelge 4.5.2.3. Fermentasyon süresince salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin asetik asit değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları...	69
Çizelge 4.5.3.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin propiyonik asit değerleri etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları	71
Çizelge 4.5.3.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin propiyonik asit değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	71
Çizelge 4.5.3.3. Fermentasyon süresince salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin propiyonik asit değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	72
Çizelge 4.5.4.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin bütirik asit değerleri etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları	74
Çizelge 4.5.4.2. Fermentasyon süresince salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin bütirik asit değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları.....	74
Çizelge 4.5.4.3. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin bütirik asit değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	75
Çizelge 4.6.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında fermentasyon sonunda <i>Bifidobacterium</i> türlerinin toplam KZYA değerleri etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları	76
Çizelge 4.6.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin toplam KZYA değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	77
Çizelge 4.7.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin $\Delta L/\Delta TOPLAM_{KZYA}$ değerleri etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları	78
Çizelge 4.7.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında <i>Bifidobacterium</i> türlerinin $\Delta L/\Delta TOPLAM_{KZYA}$ değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları	79

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
1.GİRİŞ.....	1
2.LİTERATÜR ÖZETİ.....	6
2.1.Probiyotikler.....	6
2.2.Prebiyotikler.....	12
2.3.Salep Tozu.....	20
2.4.Prebiyotik Etkinin Değerlendirilmesinde Nicel Yaklaşımlar.....	24
2.4.1. Özümseme Oranı.....	25
2.4.2.Bakteriyel Populasyonda Değişim.....	25
2.4.3.Prebiyotik İndeks (PI).....	25
2.4.4.Düzeltilmiş Prebiyotik İndeks (PI _m).....	26
2.4.5.Prebiyotik Aktivite Skoru (PAS).....	27
2.4.6.Kısa Zincirli Yağ Asitleri (KZYA) Üretimi.....	28
2.4.7.Laktik Asidin Toplam KZYA'ne Oranı.....	29
2.4.8.Prebiyotik Etkinin Ölçülmesi (MPE).....	29
2.5.Konu ile İlgili Literatür Taraması.....	30
3.MATERYAL ve YÖNTEM.....	43
3.1.MATERYAL.....	43
3.1.1. <i>Bifidobacterium</i> Türleri.....	43
3.1.2. <i>Bifidobacterium</i> Türlerinin Aktive Edilmesi.....	43
3.1.3.Salep Tozu Ekstraktının Elde Edilmesi.....	43
3.1.4.Gelişme Ortamı.....	45
3.1.5.Fermentasyon.....	45
3.2.YÖNTEM.....	46
3.2.1.Denemenin Düzenlenmesi.....	46

3.2.2.pH Analizi	47
3.2.3.Optik Yoğunluk (OD)	47
3.2.4.Prebiyotik Aktivite Sayısı	47
3.2.5.Gelişme Oranı (Bakteriyel Populasyonda Değişim)	47
3.2.6.Fermentasyon Son Ürünlerinin Analizi	48
3.2.7. Laktik Asidin Toplam KZYA 'ya Oranı	49
3.2.7. İstatistiksel Değerlendirme.....	49
4.BULGULAR ve TARTIŞMA.....	50
4.1.pH Değeri.....	50
4.2.Hücre Yoğunluğu (OD)	54
4.3.Prebiyotik Aktivite Sayısı (PAS)	58
4.4.Spesifik Gelişme Oranı (μ)	60
4.5.Kısa Zincirli Yağ Asitleri (KZYA)	62
4.5.1. Laktik Asit	62
4.5.2. Asetik Asit	66
4.5.3. Propiyonik Asit	69
4.5.4. Bütirik Asit	72
4.6.Toplam KZYA	75
4.7.Laktik Asit'in Toplam KZYA'ya Oranı	77
5.SONUÇ	80
KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	99

1.GİRİŞ

Son yıllarda beslenme değerinin yanı sıra sağlık üzerine olumlu etkileri de bulunan fonksiyonel gıda bileşenlerine artan bir talep bulunmaktadır. Fonksiyonel gıda bileşenleri; “vücudun temel besin öğeleri gereksinimini karşılar, metabolizmanın güçlendirilmesi ve hastalıkların meydana gelme riskinin azaltılması gibi insan fizyolojisi ve metabolik fonksiyonlarını olumlu yönde etkileyen bileşenler” olarak tanımlanmaktadır. Fonksiyonel gıda bileşenleri arasında fitokimyasallar, biyoaktif peptitler, omega -3 çoklu doymamış yağ asitleri, probiyotikler ve/veya prebiyotikler yer almaktadır. Bu bileşenleri içeren gıdalar “ fonksiyonel gıdalar, tedavi edici gıdalar, tıbbi gıdalar, biyo-gıdalar, bifidojenik gıdalar, düzenleyici gıdalar, ilaç gıdalar ve süper-gıdalar” olarak tanımlanmaktadır (Ross ve ark. 2000, Grajek ve ark. 2005, Özcan 2012).

Probiyotikler “yeterli miktarda alındığı zaman kişinin sağlığı ve fizyolojisi üzerinde olumlu etki yapan canlı mikroorganizmalar” olarak ifade edilmektedir (Gorbach 2002, O'Flaherty ve ark. 2010, Heydari ve ark. 2011). Probiyotik olarak adlandırılan mikroorganizmalar; *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bacillus* türleri ile *Saccharomyces* ve *Aspergillus* türleridir (Gorbach 2000, Markowitz ve Bengmark 2002, Gibson ve Williams 2000, Salminen ve ark. 2002).

Prebiyotikler, “beslenme yoluyla alınarak, sindirilmeden kolon bölgesine kadar ulaşabilen kolonda seçici bakteriler tarafından fermente edilebilen gıda bileşenleri” olarak tanımlanmaktadır (Hanson ve ark. 1999, Yağcı 2002, Özkılınç 2009, O'Flaherty ve ark. 2010, Heydari ve ark. 2011). Sinbiyotik terimi ise “probiyotik ve prebiyotik kombinasyonunu” ifade etmekte olup probiyotik ve prebiyotiğin tek başına göstereceği etkiden daha fazla olumlu etki göstererek bağırsak mikrobiyotasında probiyotik bakterilerin kolonizasyonunu destekleyen ürünleri ifade etmektedir (Al-Ghazzewi ve ark. 2007, Roberfroid 2007).

Bağırsak sistemi, metabolik olarak vücudun en aktif organlarından biri olup yetişkin bir insanın intestinal mikrobiyotasında 400'den fazla bakteri türü bulunmaktadır. *Bifidobacterium* türleri intestinal mikrobiyotanın %25'ini oluşturduğundan florada dominant olarak yer almaktadır (Roberfroid 2007). Heterofermentatif özellik gösteren *Bifidobacterium* türleri, karbonhidrat fermentasyonu sonucunda son ürün olarak asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit gibi kısa zincirli yağ asitlerini (KZYA); laktik asit, süksinik asit ve pürivik asit gibi organik asitler ile H₂, H₂S ve metan gibi gazları oluşturabilmektedir. KZYA'leri, kolon tarafından absorbe edilmekte ve kolon hücrelerinin solunumu için gerekli enerjinin %60-70'ini sağlamaktadırlar. Böylece kalın bağırsağın pH'sı kontrol edilerek, pek çok patojen bakterinin inhibisyonu gerçekleştirilmektedir (Kaptan 2000, Pompei ve ark. 2008, Rycroft ve ark. 2008). Karbonhidrat fermentasyonunun sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle bağırsak mikrobiyotasını zenginleştirici diyet uygulamalarında özellikle probiyotik ve prebiyotikler önem kazanmaktadır (Shah 2001, Pedreschi ve ark. 2003, Gibson ve ark. 2004, Van der Meulen ve ark. 2004, Wang ve ark. 2010).

Genel olarak prebiyotiklerin etkileri; i) sindirim sistemi tarafından hidroliz edilememeleri, ii) bağırsaklarda yer alan faydalı bakteriler tarafından fermente edilebilmeleri, iii) *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri gibi faydalı bakterilerin miktarlarını artırırken *Clostridium* ve *Bacteroides* türleri gibi patojen bakterilerin miktarlarını azaltmak suretiyle bağırsak mikrobiyotasını düzenleyerek konak sağlığını iyileştirmeleri olarak bilinmektedir (Şekil 1.1.) (Salvini ve ark. 2004, Çağlar ve ark. 2005, Gibson ve Roberfroid 2008).



Şekil 3.1. Prebiyotik tüketiminin etkileri

Prebiyotik içeren gıdalar arasında; hindiba, sarımsak, soğan, kuşkonmaz, mantar, nektarin, muz, pırasa, enginar, domates gibi meyve ve sebzeler ile buğday, yulaf gibi tahıllar doğal olarak yer almaktadır. Bu gıdalardan elde edilen prebiyotik bileşenler; fruktooligosakkaritler (FOS, oligofruktoz, inülin), galaktooligosakkaritler (GOS), transoligosakkaritler (TOS), glukooligosakkaritler, laktitol, izomaltooligosakkaritler (İMO), kitooligosakkaritler ile maltooligosakkaritler, ksilooligoosakkaritler (KOS), stakiyoz, rafinoz ve sükroz'dur (Campbell ve ark. 1997, Francis Suh ve ark. 2000, Zentek ve ark. 2002, Shoaf ve ark. 2006, Huebner ve ark. 2007, Roberfroid 2007, Moongngarm ve ark. 2011, Wu ve ark. 2011, Dwivedi ve ark. 2014). Bu bileşenlerin en önemli özellikleri, sindirim enzimlerine karşı dayanıklı olmaları ve konak tarafından direkt absorbe edilememeleri nedeniyle düşük kalori değerine sahip olmalarıdır. Bitkisel kaynaklardan enzimatik ya da kimyasal hidroliz yolu ile ekstrakte edilerek ticari olarak üretilmektedir (Gibson ve Roberfroid 2008).

Günümüzde prebiyotik özelliğe sahip gıda bileşenlerinden çoğu inulin bazlı frukto oligomerler ya da galaktooligosakkarit bileşikleridir. GOS ve FOS'ler ispatlanmış prebiyotiklerdir ve sağlık üzerine etkileri üzerinde yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. Son yıllarda özellikle bağırsakta doğal olarak bulunan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin gelişmesini teşvik edecek, GOS ve FOS'lere alternatif olabilecek prebiyotik kaynakların ortaya çıkarılması üzerine çalışmalar artış göstermektedir (Molan ve ark. 2009, Gomez ve ark. 2010, Mandalari ve ark. 2010, Polari ve ark. 2012, Dwivedi ve ark. 2014).

Bir substratın prebiyotik etkisi, insan bağırsak mikrobiyotasında yer alan *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* gibi yararlı bakterilerin gelişmesini desteklemesi, *Clostridia* ve *Bacteriodes* gibi zararlı bakterileri inhibe etmesi ile gerçekleşmektedir. Farklı substrat kaynaklarının prebiyotik etkisinin belirlenebilmesi; i) iyi bir substrat formu ve uygun miktarlarda kullanımı, ii) fermentasyon süresinin oldukça iyi ayarlanması, iii) analiz ve ölçümlerin doğru bir şekilde yapılması ile mümkündür. Test substratlarının prebiyotik özelliklerini belirlemek amacıyla birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında intestinal mikrobiyota bakterileri ile uygulanan saf kültür çalışmaları, karışık fekal kültürlerin kullanıldığı fermentasyon süreçleri ve insan bağırsak mikrobiyotası ile ilişkili *in vivo* denemeler yer almaktadır. Prebiyotik

etkinin hızlı ve karşılaştırmalı olarak değerlendirilebilmesi için ise fekal örneklerin inokule edildiği kesikli fermentasyon süreçlerinin tercih edilmesi farklı bağırsak mikrobiyotalarının aktivitesini belirlemek açısından kolaylık sağlamaktadır. Ayrıca, düşük miktarlarda kullanıldığında 24 saat içerisinde fermentasyonu tamamlanabilen yeni substratların keşfedilmesi amacıyla eş zamanlı olarak küçük ölçekli birden fazla yöntem uygulanabilmektedir (Wang ve Gibso 1993, Michel ve ark. 1998, Olano-Martin ve ark. 2000, Wang ve ark. 2010).

Bitkisel prebiyotik substratların proteinler, yağlar, mineraller, vitaminler, fenolik bileşikler ve diyet lifi gibi besleyici özelliklere sahip olmalarının yanı sıra *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin de gelişmesi üzerine olumlu etki gösterdikleri belirlenmiştir (Ishwarya ve Prabhasankar 2014). Batı Asya kökenli bir bitki olan salep; *Orchis*, *Ophryis*, *Platanthera*, *Serapias*, *Dactylorhiza* cinslerine ait türlerin yumrularına verilen isimdir. *Orchidaceae* familyası, yaklaşık otuz bin türü ile yeryüzünde en geniş yayılıma sahip familyalardan birisi olup yapılan çalışmalarda Türkiye’de 24 cins ve 90 civarında orkide türü bulunduğu ve yeni ilave edilen türlerle birlikte bu sayının 140'a yükseldiği bildirilmektedir. Ilıman kuşak ya da karasal orkidelerin toprakaltı organları; yumru (tuber), kök ve rizom olarak farklılık göstermektedir. Yumrular genellikle iki tane olup bunlar birbirine yapışık durumdadır. Birincisi yetiştirdiği yıla ait olan genç yumru, diğeri ise bir önceki yıla ait yumru olup bu bitkiler çiçekli haldeyken kazılıp topraktan çıkarılmakta, toplanıp toz salep elde etmek amacıyla kullanılmaktadır. Toz salep, değişik türlerin kurutulmuş yumrularının öğütülmesi ile elde edilmekte olup gıda ve farmakoloji sanayinde geniş bir kullanım alanı bulmaktadır (Sezik 1984, Özkoç ve Dalcı 1991, Akgül 1993, Çağlayan ve ark. 1998, Arditti ve Ghani 2000, Kaya ve Tekin 2001, Kayacier ve Doğan 2006, Farhoosh ve Riazi 2007, Tekinşen ve Güner 2010, Cital ve Tekinşen 2011).

Salebin bileşimi toplandığı döneme bağlı olarak karakteristik özellikler göstermekte olup salep tozunun genel bileşimi; müsilaj (%6-61), nişasta (%0,6-36), indirgen şeker (%0,4-4,5), indirgen olmayan şeker (%0,1-2,3), toplam azot (%0,4-1,2), su (%6-12), kül (%0,2-9) olarak belirlenmiştir. En önemli bileşenini suda çözünebilir doğal lif yapısındaki glukomannan oluşturmaktadır (Kaya ve Tekin 2001, Keçeli ve Konar 2003, Farhoosh ve Riazi 2007, Tekinşen ve Güner 2010, Cital ve Tekinşen 2011, Georgiadis

ve ark. 2012). Salep tozunda bulunan glukomannon miktarı % 16,4-55 civarında değişmektedir. Birçok bitkiden elde edilen glukomannan, doğal nötral suda çözünebilir bir lif olup, “sindirilemeyen polisakkaritler” grubuna dahildir. Bu grup polisakkaritler ise insan vücudunda ince bağırsakta herhangi bir enzimatik değişime uğramadan kalın bağırsağa geçerek orada fermente olmaktadır. Bu nedenle gıda bileşenlerinin bağırsağa geçişini sağlamakta ve kolonda bir hacim kaplayıp fermentasyon matriksinin oluşmasına katkıda bulunmaktadırlar. Karbonhidrat fermentasyonu KZYA'lerin açığa çıkmasına neden olarak bağırsak kanseri ve kandaki kötü kolesterol miktarını azaltarak sağlık üzerine olumlu etkiler göstermektedir (Wu ve Peng 1997, Wong ve ark. 2006, Al-Ghazzewi ve ark. 2007). Günde birkaç gram glukomannanın toplam kan kolesterolünü, kötü kolesterolü (LDL) düşürdüğü ve bazı durumlarda da iyi kolesterolü (HDL) artırdığı klinik çalışmalarla gösterilmiştir (Zhang ve ark. 1990, Vuksan ve ark. 2000). Ayrıca glukomannanın kan şekerini normal seviyesine çıkararak, pankreas üzerindeki stresi engellediği ve hipoglisemiyi önlediği belirtilmektedir (Citol ve Tekinşen 2011).

Bu çalışmada, ülkemizde yetiştirilen Kastamonu yöresine ait orkide türlerinden elde edilen salep tozunun bazı *Bifidobacterium* türlerinin (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* ve *Bifidobacterium longum* subsp. *longum*) gelişmesi üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. *Bifidobacterium* türlerinin, karbonhidrat içermeyen Tripton Pepton Maya Ekstrakt (TPY) besi ortamına ilave edilen salep tozunu fermente edebilme yetenekleri araştırmanın konusunu oluşturmaktadır.

Çalışma;

- *Bifidobacterium* türlerinin salep tozu içeren besi ortamında fermentasyon boyunca gelişme yeteneklerinin incelenmesi,
 - Salep tozunun prebiyotik aktivite sayısının belirlenmesi,
 - Özellikle prebiyotik substratlardan probiyotik bakterilerin fermentasyonu sonucu oluşan laktik asit ile asetik, propiyonik ve bütirik asit gibi KZYA'lerinin konsantrasyonlarının saptanması,
- aşamalarını kapsamaktadır.

2.LİTERATÜR ÖZETİ

2.1.Probiyotikler

Probiyotikler, “beslenme ile vücuda yeterli miktarda alındığında gastrointestinal sistemdeki mikrobiyotaya yerleşerek insan sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı mikroorganizmalar” şeklinde tanımlanmaktadır (Fuller 1992, Shah 2001, Sanders 2003, Gibson ve ark. 2004). İntestinal sistemdeki mikrobiyal dengeyi sağlayan probiyotikler; yaşayan mikroorganizmalar olup mukozal ve sistemik bağışıklığı ayarlayarak konakçının sağlığını olumlu etkilemektedir (Gill 2003, Sanders 2003, Timmerman ve ark. 2004, Mazmanian ve ark. 2008).

Sağlıklı bir bireyin intestinal sisteminde yer alan probiyotik mikroorganizmalar burada belli oranlarda bulunmakta ve probiyotik mikrobiyota, vücudun mukoz membranları ile sindirim bölgelerinde kolonize olabilen bakterilerden oluşmaktadır (Sanders 2003). Bir mikroorganizmayı probiyotik özellikli olarak değerlendirmek için; i) mikroorganizmanın bağırsaklarda kolonize olması, ii) asidik mide ortamında canlılığını sürdürebilmesi, iii) safra asitlerine karşı dirençli olması, iv) metabolik faaliyetlerini ve canlılığını bağırsakta da sürdürerek bağırsak mukozasına tutunabilme yeteneğine sahip olması, v) patojenik ve kanserojenik etkilere karşı antagonist olması, vi) antimikrobiyal maddeler üretebilmesi, vii) antibiyotiklere karşı dirençli olması, viii) bulunduğu metabolizmaya fayda sağlaması gerekmektedir (Salminen ve ark. 1998, Gülmez ve Güven 2002, Cruz ve ark. 2007, Singh ve ark. 2011, Ceyhan ve Alıç 2012). Genel anlamda probiyotik olarak tanımlanan ve en çok kullanılan mikroorganizmalar *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin seçilmiş suşları olup bu mikroorganizmalar ve diğer probiyotik mikroorganizma grupları Çizelge 2.1.1.’de gösterilmektedir.

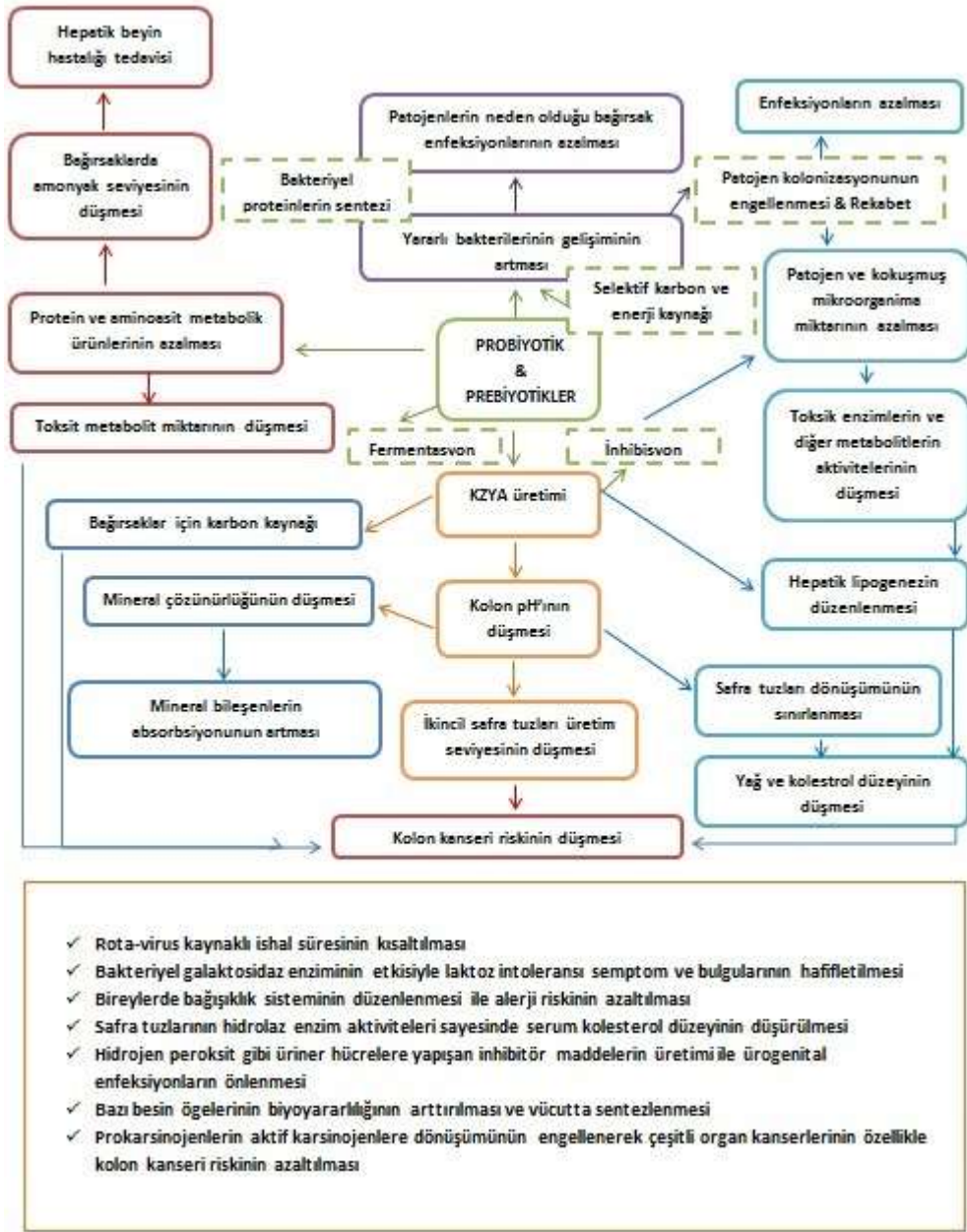
Çizelge 2.4.1. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar

	TÜRLER	
<i>Lactobacillus</i> türleri	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus lactis</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus gasseri</i> <i>Lactobacillus cellebiosus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactobacillus curvatus</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus johsonli</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus salivarius</i>
<i>Bifidobacterium</i> türleri	<i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Bifidobacterium adolescentis</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium thermophilum</i>	
<i>Bacillus</i> türleri	<i>Bacillus pumilus</i> <i>Bacillus lentus</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus coagulans</i> <i>Bacillus subtilis</i>	
<i>Streptococcus</i> türleri	<i>Streptococcus cremoris</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Streptococcus intermediu</i> <i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus diacetylactis</i>	
<i>Pediococcus</i> türleri	<i>Pediococcus cerevisiae</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>	
<i>Bacteriodes</i> türleri	<i>Bacteriodes capillus</i> <i>Bacteriodes suis</i> <i>Bacteriodes ruminicola</i> <i>Bacteriodes amylophilus</i>	
<i>Propionibacterium</i> türleri	<i>Propionibacterium shermanii</i> <i>Propionibacterium freudenreichii</i>	
<i>Leuconostoc</i> türleri	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
Küfler	<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus oryzae</i>	
Mayalar	<i>Saccharomyces boulardii</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida torulopsis</i>

Probiyotiklerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin uzun yıllardan beri bilinmesiyle birlikte Metchnikoff (1907)'un çalışmalarında yoğurt tüketimini diyetlerde önermesi, probiyotikleri daha da önemli hale getirmiştir. Günümüzde intestinal mikrobiyotada yer alan bakterilerin faydalı etkileri ile ilgili birçok araştırma yapılmaktadır. Yapılan bu araştırmalar sonucunda daha sağlıklı bir yaşam sürmek, vücut direncini arttırmak, bağırsak düzensizlikleri ve hastalıklarının tedavisi amacıyla probiyotik ürün tüketimine olan ilgi artmaktadır. Probiyotiklerin sağlık üzerindeki olumlu etkileri arasında; i) rota-

virus kaynaklı ishal süresinin kısaltılması, ii) bakteriyel galaktosidaz enziminin etkisiyle laktoz intoleransı semptom ve bulgularının hafifletilmesi, iii) bireylerde bağışıklık sisteminin düzenlenmesi ile alerji riskinin azaltılması, iv) prokarsinojenlerin aktif karsinojenlere dönüşümünün engellenerek çeşitli organ kanserlerinin özellikle kolon kanseri riskinin azaltılması, v) safra tuzlarının hidrolaz enzim aktiviteleri sayesinde serum kolesterol düzeyinin düşürülmesi, vi) hidrojen peroksit gibi üriner hücrelere yapışan inhibitör maddelerin üretimi ile ürogenital enfeksiyonların önlenmesi, vii) bazı besin öğelerinin biyoyararlılığının artırılması ve vücutta sentezlenmesi yer almaktadır. Probiyotik ürünlerin insan sağlığı üzerine etkileri Şekil 2.1.1.'de ayrıntılı olarak verilmiştir (Fuller 1989, Bernet ve ark. 1993, Sanders 1999, Gobarch 2000, Kalliomaki ve ark. 2001, Kop-Hoolihan 2001, Laurens-Hattingh ve Viljoen 2001, Gobarch 2002, Markowitz ve Bengmark 2002, Mercenier ve ark. 2002, Çakır 2003, Gosh ve ark. 2004, Hill ve Guarner 2004, Commane ve ark. 2005, Grajek ve ark. 2005, Penner 2005, Coşkun 2006, Goldman ve ark. 2006, Tok ve Aslım 2007).

Probiyotik mikroorganizmaların insan sağlığını geliştirici yönde etkin özellik gösterebilmeleri için ürünlerde en az 10^6 - 10^7 kob/g bulunması gerekmektedir. Ayrıca probiyotik özelliğin türlere göre değişmekte olduğu göz önüne alındığında bazı türler 10^7 - 10^8 kob/g, bazı türler ise 10^6 kob/g gibi daha düşük miktarlarda etkinlik göstermektedir (Shortt 1999, Kılıç 2001). Sağlıklı bir bireyin en az 10^7 kob/g düzeyinde probiyotik mikroorganizma içeren gıdalardan günde 100 g'dan fazla miktarda tüketmesi önerilmektedir (Lee ve Salminen 1995).



Şekil 5.1.1. Probiyotik mikroorganizmaların sağlık üzerine olumlu etkileri

Probiyotik olarak nitelendirilen ve ilk olarak Pasteur Enstitüsü'nden Henry Tissier tarafından 1899 yılında süt ile beslenen bebeklerin dışkılarından izole edilen *Bifidobacterium* türleri, insan ve hayvanların intestinal sisteminin doğal bir parçası olup bağırsak mikrobiyotasında sinbiyotik bakteri-konak ilişkisi şeklinde canlılıklarını sürdürmektedir. *Bifidobacterium* türleri bağırsak mikrobiyotasında yaşa bağlı olarak farklı tür ve oranlarda bulunmakla birlikte, genç ve yetişkinlerde dışkı mikrobiyotasının

%20'sini oluştururken bebeklerde ise %99'unu oluşturmaktadır (Mitsuoka 1984, Tamime ve ark. 1995, Gallaher ve Khil 1999, Duwat 2000).

Gram pozitif, hareketsiz, spor oluşturmeyen, genellikle çubuklar şeklinde ve dallanmış yapıda bulunan anaerobik, glukozu asetik asit ve laktik asite metabolize edebilen heterofermentatif özellikte karakteristik bir morfolojiye sahip olan bu türler, Y şeklinde ve bifid formunda olduklarından *Bacillus bifidus* olarak isimlendirilmiştir (Şekil 2.1.2.) (Mayo ve Sinderen 2010, Ceyhan ve Alıç 2012, Özden 2013). *Bifidobacterium* türleri 8. Bergey's Manual'de bağımsız bir cins olarak *Bifidobacterium* genus adını almış ve *Actinomycetaceae* familyasına dahil edilmiştir. 9. Bergey's Manual'de ise *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. thermophilum*, *B. adolescentis*, *B. longum*, *B. pseudolongum*, *B. coryneforme*, *B. indicum* ve *B. dentim* türlerini içeren 24 türü belirlenmiştir (Scardovi 1986).

Anaerobik mikroorganizmalardan olan *Bifidobacterium* türleri, genellikle %10 oranında CO₂ bulunan ortamda gelişmektedir. Fakat bazı türleri oksijeni tolere edebilmektedir. *Bifidobacterium* türlerinin insanlarda optimum gelişme sıcaklığı 36-38 °C iken hayvanlarda daha yüksek olup 41-43 °C arasında değişmektedir. Gelişmeleri için optimum pH aralığı 6,5-7 arasında olup, ortam pH'ının 4,5-5'den düşük ve 8-8,5'dan yüksek olduğu durumlarda aktiviteleri azalmaktadır (Fooks ve ark. 1999, Ceyhan ve Alıç 2012). *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri arasındaki fark, karbonhidratları metabolize etme yollarından kaynaklanmaktadır. *Lactobacillus* türleri heksozu metabolize ederken glukoz-6-fosfat yolunu, *Bifidobacterium* türleri ise fruktoz-6-fosfat yolunu kullanmaktadır. Glukozun asetik asit ve laktik asite dönüşüm mekanizmasının bir enzimi olan fruktoz-6-fosfat fosfoketolaz, *Bifidobacterium* türlerinin diğer mikroorganizmalardan ayırt edilmesinde kullanılmaktadır. Bu dönüşüm ile meydana gelen önemli son ürünler; asetik asit ve L(+) laktik asittir (3:2) (Özbaş, 1995, Rohr 2003, Yaşar ve Kurdaş 2009, Mayo ve Sinderen 2010). Bu mekanizma sonucu ürettikleri laktik asit, asetik asit, bakteriyosin gibi antimikrobiyal maddeler ile bağırsaklarda patojen mikroorganizmaların çoğalma hızını kontrol etmektedirler. Amonyacı nitrojen kaynağı olarak kullanan *Bifidobacterium* türlerinin bazı tür veya suşlarının mide asidine, safraya ve pankreas enzimlerine karşı dirençli olmaları probiyotik özelliklerinin baskın olduğunu göstermektedir. Bu türler arasında

B. adolescentis, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. longum* yer almaktadır. Özellikle *B. lactis* üzerine yapılan çalışmalar, bu türün fermente süt ürünleri ile birlikte alındığında kolonda büyük ölçüde canlı kaldığı, bu türü içeren ürünlerin düzenli tüketimi ile bağırsaktan geçiş süresinin kısaldığı, midede en az 90 dakika canlı kalabildiği, gaitada 10^8 kob/g gibi oldukça yüksek miktarda bulunduğu saptanmıştır (Ishibashi ve Shimamura 1993, Gibson ve Wang 1994, Schell ve ark. 2002, Ceyhan ve Aliç 2012, Özden 2013).



Şekil 2.1.2. *Bifidobacterium* türlerinin morfolojik yapısı

B. longum gram pozitif, katalaz-negatif, gastrointestinal sistemde çubuk şeklinde bulunan *Bifidobacterium* familyasına ait 32 türden biridir. Ayrıca mikro-aerotolerant, anaerob ve bebeklerin bağırsak mikrobiyotasının başlangıç kolonizasyonunu oluşturduğu düşünülmektedir (Picco 2008). *B. longum*'un yetişkin bağırsak mikrobiyotasının bir bölümünde yer aldığı ve laktik asit ile asetik asit üreterek patojen mikroorganizmaların gelişimini önlediği bildirilmektedir (Reinert 2002, Schell ve ark. 2002, Isselbacher ve Kurt 2005). *B. infantis*, *B. longum* ve *B. suis*'in gen biyotipleri oldukça benzer olduğundan ve karbonhidrat metabolizmalarının çok az farklılık göstermesi nedeniyle bu suşlar *B. longum* adını almıştır (Başyigit 2004).

B. bifidum, *Bifidobacterium* familyasının bir türü olup, insan vücudunda yaygın olarak bulunan probiyotik bakterilerden biridir (Khailova ve ark. 2009). *B. bifidum* gram pozitif, hareketsiz, anaerobik, spor formu bulunmayan bir türdür. Bakteri çubuk şeklinde çift kümeler halinde ya da serbest formda bulunabilmektedir. Populasyonun çoğunluğu kolonda, daha düşük miktarlarda ince bağırsakta, anne sütünde ve sıkça vajinada bulunmaktadır. *B. bifidum*'un anneden çocuğa geçmesi anne sütünde ve

vajinada yer alan mikrobiyota ile başlamaktadır ve bu durum doğumdan sonra çocuğun intestinal kolonizasyonunun gelişmesine yardımcı olmaktadır (Fooks ve ark. 1999).

B. animalis insan intestinal mikrobiyotasında geniş alanda yer alan gram pozitif, anaerobik, çubuk şeklinde biçimlenen bakteridir. *B. animalis* özellikle irritabl bağırsak sendromu (IBS) tedavisinde önemli bir yere sahip olup diyetle günde iki kez fermente süt tüketimi ilavesi önerilmektedir (Masco ve ark. 2004).

Bireylerin gastrointestinal sistem (GİS)'inde bulunan yararlı ve patojen bakterilerin belli bir denge içerisinde bulunması gerekmektedir. Bu dengenin meydana gelme süreci doğumla birlikte başlamaktadır. GİS'in normal mikrobiyotası doğumda sterilken, doğumdan sonra intestinal mikrobiyota kazanılmakta ve yaşam boyu sabit kalmaktadır. Doğumdan sonraki 48. saatte kolonda *Enterobacteria*, *Staphylococci*, *Streptococci* (10^9 - 10^{10} kob/g) türleri bulunmaktadır. İkinci ve beşinci günlerde oluşan *Bifidobacterium* türleri birinci haftadan sonra floraya (10^{10} - 10^{11} kob/g) hakim olmakta bununla birlikte *Enterococcus*, *Bacteriodes*, *Clostridium* gibi patojenler de azalmaktadır (Yalçın ve Yurdakök 2000, Young ve Huffman 2003, Gültekin 2004, Caicedo ve ark. 2005, İnanç ve ark. 2005, Yeşilova ve ark. 2010). Ancak bu denge hastalık, stres, yetersiz ve dengesiz beslenme gibi birçok faktörün etkisiyle olumsuz yönde değişebilmektedir. Probiyotiklerin olumsuz bu etkiye karşı savunma mekanizması; enfeksiyonların sürelerini kısaltmak ya da patojenlere duyarlılığı azaltmak amacıyla bağırsak mikrobiyotasının değiştirilmesi, mukus ya da epitel yüzeylere tutunma, bağırsaklardaki epitel bariyeri güçlendirme ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesi şeklinde olmaktadır (Fukushima ve ark. 1998, Elahi ve ark. 2008, Desphande ve ark. 2011, Doğan 2012, Erem ve ark. 2013).

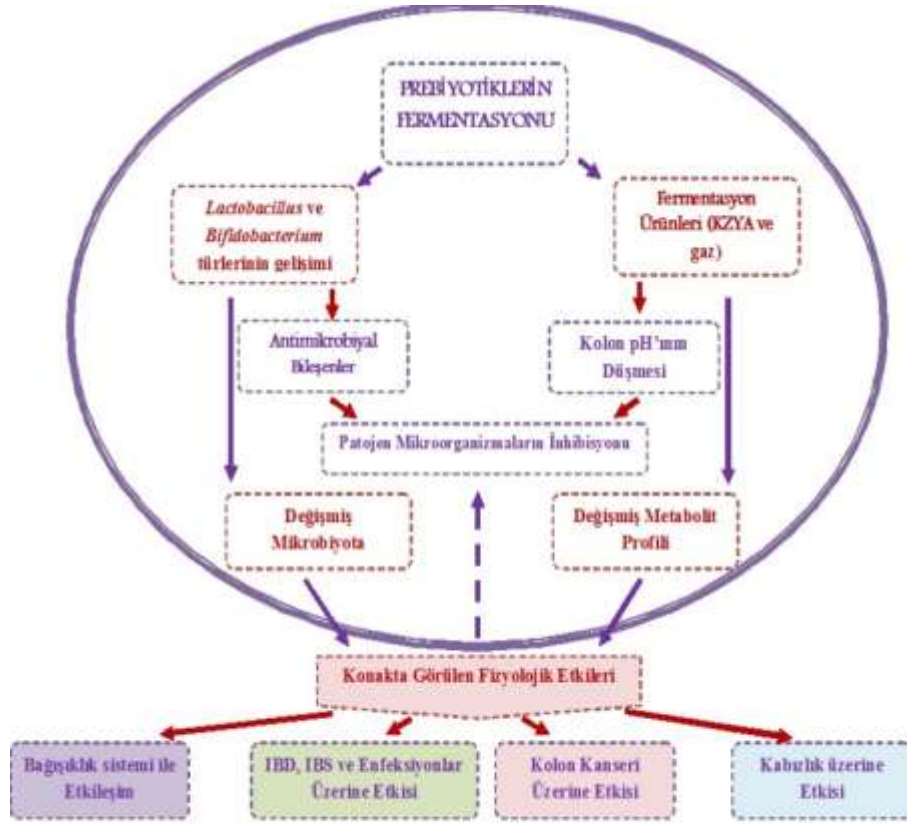
2.2.Prebiyotikler

Prebiyotikler, “mide ve ince bağırsakta sindirime uğramadan kalın bağırsağa geçen, intestinal mikrobiyotada bulunan bir veya sınırlı sayıdaki birkaç tür mikroorganizma türünün (*Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi yararlı bakteriler) çoğalmasını ve/veya aktivitesini seçici olarak destekleyerek konak sağlığını olumlu yönde etkileyebilen, sindirilemeyen gıda bileşenleri” olarak tanımlanmaktadır (Hanson ve ark. 1999, Yağcı

2002, Ölçer 2011). Sindirim sistemi enzimlerine dayanıklı bir kimyasal yapıya sahip olan prebiyotikler, ince bağırsakta absorbe edilemezler sindirime uğramadan kalın bağırsağa geçerler ve burada endojen bakteriler tarafından fermente edilmektedirler. Bu bileşenler, besi ortamında ya da insan/hayvan bağırsak mikrobiyotasında özellikle *Bifidobacterium* türleri tarafından fermente edilip bu bakterilerin gelişmesini ve aktivitesini destekledikleri için “bifidus faktör” ya da “bifidojenik faktör” olarak da tanımlanmaktadırlar (Brannon 2003, Tokunağa 2004, Özden 2005a).

Bir gıda bileşeninin prebiyotik olarak kabul edilmesi için; i) GİS’in üst bölgelerinde hidrolize ve absorbe edilmemesi, ii) bağırsak mikrobiyotasında *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri tarafından selektif olarak fermente edilebilmesi, iii) bir veya sınırlı sayıda kolonik bakteri türü için seçici substrat ihtiyaçlarını karşılama ve bu şekilde kolonik mikrobiyotayı daha sağlıklı bir kompozisyona doğru değiştirebilmesi iv) konak sağlığı için yararlı etkiler oluşturması gibi özellikleri taşıması gerekmektedir (Marini ve ark. 2003, Özen 2004, Moro ve ark. 2006, Scholtens ve ark. 2006).

Prebiyotiklerin kolonda *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri tarafından fermente edilmesi sonucu, laktik asit ile asetik, propiyonik, bütirik asit gibi KZYA’leri, CO₂, H₂ ve metan gibi gazlar oluşmaktadır. KZYA'leri, kolon epitel hücreleri için gerekli enerjiyi sağlayan besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, bağırsak sisteminin korunması, bağırsak ilişkili immun sistemin düzenlenmesi, bağırsaklardan sodyum, kalsiyum ve magnezyum emiliminin artması ve normal serum kolesterol seviyesinin sağlanması gibi sağlık üzerine olumlu etkilere sahiptir (Şekil 2.2.1) (Mussatto ve Mancilha 2007, Macfarlane ve ark. 2008, Quigley 2010, Özden 2013).



*IBD: İltihabi Bağırsak Hastalığı; IBS: İrritabl BağırsakSendromu

Şekil 4.2.1. Prebiyotiklerin fermentasyonu ve sağlık üzerine olumlu etkileri

Prebiyotikler; süt ve süt ürünleri (yoğurt, peynir, tatlı ve içecekler), dondurulmuş tatlılar, meyveler (muz, nektarin), sebzeler (domates, soğan, yerelması, hindiba, sarımsak, pırasa, enginar, soya, kuşkonmaz, kudüs enginarı), kahvaltılık tahıllar ile aperatif gıdalar, fırınlanmış ürünler - ekmek, dolgu maddeleri, şekerlemeler, çikolata, diyetetik ürünler, sürülebilir ürünler, tereyağ, salata sosları, et ürünleri ve meşrubatlar gibi gıdaların bileşiminde doğal olarak yer almaktadır (Çizelge 2.2.1.) (Shin ve ark. 2000, Sezen 2013, Ishwarya ve Prabhasakar 2014).

Çizelge 2.2.1. Prebiyotik gıda kaynakları

Prebiyotik Gıda Kaynakları	Fonksiyonel Özellikler
Süt Ürünleri (yoğurt, peynir, tatlı ve içecekler)	<ul style="list-style-type: none">✓ Şeker ikamesi✓ Yağ ikamesi✓ Köpük stabilizasyonu (süt ürünleri)✓ Erime özelliği (Dondurulmuş tatlılar)✓ Kuvvetli tatlandırıcılarla sinerji (meyveli ve diyetetik ürünler)✓ Gevreklik (kahvaltılık tahıllar)✓ Su tutma kapasitesi (fırınlanmış ürünler)✓ Isı direnci (çikolata)✓ Tekstür ve sürülebilirlik (Sürülebilir ürünler ve tereyağ)✓ DIYET LİFİ ve PREBİYOTİK
Dondurulmuş Tatlılar	
Meyveler (muz)	
Sebzeler (domates, soğan, yerelması, hindiba, sarımsak, pırasa, enginar, soya, kuşkonmaz, kudüs enginarı, tekesakalı çiçeği),	
Tahıllar (buğday, çavdar, arpa)	
Kuru Baklagiller	
Kahvaltılık Tahıllar-Aparatif Gıdalar	
Fırınlanmış Ürünler-Ekmek	
Dolgu Maddeleri	
Şekerlemeler	
Çikolata	
Diyetetik Ürünler	
Sürülebilir Ürünler-Tereyağ	
Salata Sosları	
Et Ürünleri	
Meşrubatlar	
Bal, Şeker Kamışı Suyu, Bambu Filizi	

Gıda kaynaklarından elde edilen prebiyotik substratlar, kimyasal yapılarına göre sakkarit türevleri, protein/peptidler ve yağlar olarak sınıflandırılmaktadır. Prebiyotik bileşenlerden sakkarit türevleri ise kendi aralarında disakkaritler (laktoz, laktuloz, şeker alkolleri-polyo), oligosakkaritler (GOS, FOS, rafinoz, sitakiyoz, SOS) ve polisakkaritler (fruktanlar, dirençli nişasta) olarak gruplandırılmaktadır (Şekil 2.2.2.) (Ishwarya ve Prabhasakar 2014).

Oligosakkaritler; birbirlerine glikozit bağı ile bağlı 2-10 monosakkarit zinciri uzunluğundaki polisakkaritlerdir (Spring 1998, Mussatto ve Mancilha 2007). Bazı prebiyotik gıda kaynakları bileşiminde doğal olarak bulunurken, bunların dışında diyet lifi ve nişasta gibi polisakkaritlerin enzimatik reaksiyonları ve mono ve disakkaritlerden sentezlenmesi sonucu da meydana gelmektedirler (Roberfroid 2000, Manning ve Gibson 2004, Yerlikaya ve Karagözlü 2009, Sezen 2013). Çizelge 2.2.1.'de belirtilen besin kaynaklarındaki konsantrasyonları ise %0,30-6,00 arasında değişmektedir (Mussatto ve Mancilha 2007, Macfarlane ve ark. 2008).



Şekil 2.2.2. Prebiyotik bileşenler

Endüstride prebiyotik özellik gösteren başlıca bileşenler arasında fruktooligosakkaritler (FOS), galaktooligosakkaritler (GOS), transoligosakkaritler (TOS), ksilooligosakkaritler

(KOS), gentio-oligosakkaritler, laktuloz, laktosükroz, inulin, izomaltooligosakkarit (İMO), soya fasülyesi oligosakkaritleri (SOS), dirençli nişasta, gluko-oligosakkaritler, raftilin, oligomat, palatinoz, priodekstrinler, sorbitol yer almaktadır (Kohmoto ve ark. 1988, Collins ve Gibson 1999, Reddy 1999, Shin ve ark. 2000, Farnworth 2001, Mussatto ve Mancilha 2007, Parracho ve ark. 2007, Sarkar 2007, Gibson ve Roberfroid 2008, Ishwarya ve Prabhasakar 2014).

FOS'ler doğal olarak buğday, soğan, sarımsak, muz gibi birçok sebze, meyve ve tahıllarda yer alan gıdalardan elde edilen farklı polimerizasyon derecelerine sahip insan bağırsak mikrobiyotası tarafından sindirilemeyen ve emilemeyen kısa ve orta zincirli β -D-fruktanlardır (Williams ve ark. 1994, Gibson ve ark. 1995, Macfarlane ve ark. 2008). Probiyotik bakteriler tarafından β -fruktofuranosidaz enzimi ile fruktoz molekülüne parçalanarak hücre içine alınmaktadır (Perin ve ark. 2001). Ayrıca *Aspergillus* türü ve *Aureobasidium* türüne ait bakterilerin fruktoziltransferaz enzimleri ile sükrozdaki fruktoza 1-3 adet früktoz transfer edilerek FOS sentezlenmektedir (Yun 1996). Kuzey Amerika'da bir bireyin günlük 1-4 g FOS tüketirken, Avrupa'da bu tüketimin 3-11 g olduğu bildirilmiştir (Roberfroid 1999, İnanç ve ark. 2005). Günlük diyetimizde yer alan bir porsiyon pırasa, bir küçük boy muz, bir orta boy soğan ve sarımsakla alınan ortalama 4-10 g FOS bifidojenik etki göstermektedir (Green 1997, Moshfegh ve ark. 1999).

FOS, *Bifidobacterium* türlerinin gelişimini desteklediği için bazı hastalıkların tedavisinde FOS'in yanında *Bifidobacterium* türleri verilerek probiyotiklerin etkinliği artırılmaktadır (Williams ve ark. 1994). FOS'in fermentasyonu ile kalsiyum ve magnezyum minerallerinin emilimi artmakta buna bağlı olarak serum glukoz ve kolesterol seviyesi azalmaktadır. Fermentasyon ile meydana gelen KZYA, sodyum ve suda emilimini artırarak bağırsak epitel hücrelerinin çoğalmasını desteklemektedir (Hanson ve ark. 1999, Mussatto ve Mancilha 2007).

İnülin doğada $\text{Glu } \alpha(1-2)[\beta\text{-Fru } (1-2)]_n$ $n>10$ yapısında, fruktoz birimlerinden oluşan ve birçok bitkide özellikle kudüs enginarında yoğun depo karbonhidratı olarak bulunan bir polimerdir. Polimerizasyon derecesi 2-60 veya daha fazla olan bir fruktandır. Oligofruktoz ise inülinin bir alt grubu olup, polimerizasyon derecesi ise 2-20 gibi daha

düşük inülinin hidrolize olması ise oluşmaktadır. İnülin ve oligofruktoz sindirelemeyen oligosakkaritlerden FOS'ler grubuna dahildir. *In vivo* ve *in vitro* çalışmalara göre muz, buğday, soğan ve sarımsak inülin açısından zengin diyet kaynaklarıdır. Prebiyotik diyet lifi olarak en fazla tercih edilen bileşenler arasında yer alan inülin ve oligofruktoz ürünün kalori değerini düşürmek amacıyla süt ürünleri, dondurma, şekerleme ve unlu mamüller üretiminde şeker ve yağ yerine tekstür kazandırıcı, stabilize edici olarak kullanılmaktadır. Bu bileşenler yapılarında buldukları β (1-2) bağları sayesinde insan bağırsağında yer alan enzimler ile metabolize edilemediklerinden ağız, mide, ince bağırsaklardan hidrolize olmadan geçerler ve diğer karbonhidratlara göre kalori değerleri daha düşüktür. Çeşitli çalışmalar incelendiğinde inülin ve oligofruktozun kandaki amonyak ve üre seviyesini azaltıcı, yüksek su tutma kapasitelerinden ve metabolize olmamalarından dolayı kabızlık şikayeti olan hastaların gaita miktarını artırarak rahatlatıcı, trigliserit ve kan kolesterol seviyesini düşürücü, fermentasyon sonu ürünleri ile bağırsak mukozasını iyileştirici etkilerinin olduğu saptanmıştır (Nilson ve ark. 1988, Ebihara ve Schneeman 1989, Reddy ve ark. 1994, Gibson ve ark. 1995, Fiordalisa ve ark. 1995, David ve ark. 1999, Gibson 1999, Ninesse 1999, Reddy 1999, Roberfroid 2000, Izzo 2001, Kolida ve ark. 2002).

Oligosakkaritler içerisinde yer alan GOS; galaktoz içeren $\text{Glu 1-4}[\beta\text{-Gal 1-6}]_n$ $n=1-4$ yapısındadır. β -galaktosidaz enziminin trans-galaktosidaz aktivitesiyle laktozdan üretilmesinin yanında baklagiller, soya fasulyesi gibi bitki kaynaklarından da ekstrakte edilmektedirler. GOS inek sütüne oranla anne sütünde (10-12 g/L) özellikle kolostrumda oldukça yüksek miktarda bulunmaktadır. GOS'ler de FOS'ler gibi özellikle bebek mamaları, süt ürünleri, hazır sos ve çorbalar, kahvaltılık gevrekler, dondurma, unlu mamüller üretiminde yağ ve şeker yerine kullanılmaktadır. Anne sütünde çözünür formda bulunan bu oligosakkaritlerin reseptör olarak davranması sonucu bebek kolera ve üriner sistem enfeksiyonlarına karşı korunmaktadır. Ayrıca, anne sütü ile beslenen yenidoğan bebeklerin GİS'lerinde mama ile beslenenlerden 10 kat fazla *Bifidobacterium* türlerinin yer aldığı belirtilmektedir (Bouhnik ve ark. 1997, Hanson ve ark. 1999, Yağcı 2002, İnanç ve ark. 2005, Musatto ve Mancilha 2007, Veereman 2007, Gugler 2008, Macfarlane ve ark. 2008, Yerlikaya ve Karagozlu 2009, Chou ve ark. 2013, Sezen 2013).

Prebiyotik oligosakkaritlerin içinde yer alan IMO; $\alpha(1-6)$ glukozidik bağı ile birbirine bağlı glukoz monomerlerinden oluşmaktadır. Kaynağını bal, şeker kamışı suyu gibi doğal ürünlerden almaktadır. Bu tip oligosakkaritler sükroz, maltoz, nişasta ve dekstran karbonhidratları kullanılarak üretilmektedir. Nişasta *Bacillus subtilis*, α -amilaz ve neopullulanaz kullanıldığında glukoz, maltoz, panoz, IMO karışımı elde edilirken; dekstran asit ya da dekstranaz kullanılarak IMO'lere çevrilmektedir. Sükroz ile substrat olarak glukoz kullanıldığında ise IMO elde edilmektedir (Tanrıseven ve Doğan 2002). *Lactobacillus* türleri üzerinde de oldukça etkili olan IMO'ler bağırsaklarda *Bifidobacterium* türleri ve *Bacteriodes fragilis* tarafından fermente olurken, *E. coli* ve diğer mikrobiyota popülasyonu tarafından fermente olma özelliğine sahip değildir. Bunlar içerisinde izomaltoz ve izomaltorioz ince bağırsakta kısmen fermente olurken, izomaltoriozdan büyük olanları kalın bağırsakta fermente olmaktadır (Kaneko ve ark. 1994, Olano-Martin ve ark. 2000, Mussatto ve Mancilha 2007).

KOS; β (1-4) bağı ile birbirlerine bağlı ksiloz ünitelerinden oluşan şeker oligomerleridir. Gıdaların besinsel ve duyuşal özelliklerini pozitif yönde etkileyen KOS'ler endüstriyel olarak mısır koçanı, saman, malt kekleri ve kepek gibi ksilan yönünden zengin lignoselülozik ürünlerden elde edilmektedir (Erdoğan ve Akpınar 2006, Mussatto ve Mancilha 2007, Yerlikaya ve Karagözlü 2009).

İlk kez 1930'lu yıllarda kimyasal reaksiyonlar sonucu laktozdan elde edilen laktuloz bifidojenik bir substrat olup, semisentetik bir disakkarittir. Doğada normal şartlarda bulunmamakla birlikte süt ürünlerinin ısı ile etkileşimi sonucu laktozun izomerizasyonu ile oluşmaktadır. Bu bileşenin bağırsak mikrobiyotasını aktifleştirmesi, kan şekeri ve kolesterol kontrolü, mineral emilimini artırması, safra taşı oluşumunun engellenmesi gibi sağlığa yararlı etkileri bulunmaktadır (Özden 2005b, Yerlikaya ve Karagözlü 2009).

Ekmek mayasının (*Saccharomyces cerevisiae*) hücre duvarından elde edilen mannanoligosakarit (MOS), doğal ve alternatif bir katkı maddesidir. Güçlü bir antijen özelliğine sahip olan maya hücre duvarının bileşiminde; %30 mannan, %30 glukan ve %12,5 protein bulunmaktadır. Hücre duvarındaki mannoz birimleri patojen bakterilerin ince bağırsaklara tutundukları yerlerde güçlü bağlar oluşturarak, konağa zarar vermeden

vücuttan atılmalarını sağlamaktadır. MOS'in hayvan GİS mukozasını iyileştirdiği, bağırsak villilerini artırmasının yanında maltaz, aminopeptidaz, alkali fosfataz aktivitesini artırdığı saptanmıştır. MOS'lerin patojen bakteriler tarafından tutulmaları sonucu, patojen bakteriler GİS kanalı hücre duvarına bağlanamamakta ve hayvan metabolizmasına zarar vermeden dışarı atılmaktadır. Böylece bağırsak mikrobiyotasındaki yararlı bakterilerin çoğalması desteklenmekte pH'ı düşürerek, patojenlerin çoğalması önlemekte ve bağışıklık sistemi güçlenmektedir (İji ve Tivey 1999, Li ve Gatlin 2004, Tunç 2007, Genç ve ark. 2011, Sezen 2013).

2.3.Salep Tozu

Çiçekli bitkilerin en geniş familyası, orkidelerin de içinde bulunduğu *Orchidaceae* familyasıdır. Dünya üzerinde 18.000-20.000 türü bulunan orkideler ülkemizde doğal olarak yetişmektedir. Bu bitki Batı Asya kökenli, yumrulu, otsu, düz ve uzun yapraklı, beyaz, pembe, kırmızı, leylak ve mor renkte çiçeklere sahiptir (Şekil 2.3.1.). Salep bitkilerinin dahil olduğu *Orchidaceae* familyasına ait 24 cins ve 90 kadar tür saptanmıştır. Türkiye'de bulunan 8-10 cinse ait 30 orkide türünden salep tozu elde edilmektedir (Çizelge 2.3.1.) (Sezik 1984, Akgül 1993, Çağlayan ve ark. 1998, Sezik 2002, Farhoosh ve Riazi 2007, Tekinşen ve Güner 2010, Cital ve Tekinşen 2011, Erzurumlu ve Doran 2011).



Şekil 2.3.1. *Orchidaceae* familyasına ait orkide türleri

Çizelge 2.3.1. Türkiye’de salep elde edilen orkide cins ve türleri ile yetiştiği bölgeler

CİNS	TÜR	YETİŞTİĞİ BÖLGELER
<i>Aceras</i>	<i>A. Anthropophorum</i>	Kuzey Anadolu Bölgesi -Kastamonu salebi
<i>Anacamptis</i>	<i>A. Pyramidalis</i>	
<i>Barlia</i>	<i>B. Robertiana</i>	Güney Anadolu Bölgesi
<i>Dactylorhiza</i>	<i>C. iberica,</i> <i>D. osmanica, D. Romana</i>	-Muğla salebi -Antalya salebi
<i>Himantoglossum</i>	<i>H. afine</i>	-Silifke salebi
<i>Neotinea</i>	<i>N. maculata</i>	
<i>Ophrys</i>	<i>O. bombyliflora,</i> <i>O. ferrumequinum, O. fusca,</i> <i>O. holosericea, O. Mammosa</i>	Güney Doğu Anadolu Bölgesi
<i>Orchis</i>	<i>O. anatolica, O. coriophora,</i> <i>O. italica, O. laxiflora, O. morio,</i> <i>O. pallens, O. palustris, O. mascula</i> ssp. <i>pinetorum, O. provincialis,</i> <i>O. purpurea, O. sancta, O. simia,</i> <i>O. spitzelii, O. Tridentata</i>	-Kahramanmaraş salebi Doğu Anadolu Bölgesi -Van salebi
<i>Serapias</i>	<i>S. vomeracea</i> ssp. <i>Orientalis</i>	Batı Anadolu Bölgesi

Kahramanmaraş yöresinde doğal florada yetişen *Orchis mascula*, *Dactylorhiza iberica*; Doğu Akdeniz bölgesinde yaygın olarak *Orchis anatolica*, *Orchis coriophora*, *Ophrys bornmuelleri*, *Ophrys phrygia*, *Serapias vomeraceae*, *Himantoglossum afine* orkide türleri; Trakya bölgesinde ise *Ophrys*, *Orchis* ve *Dactylorhiza* cinslerine ait orkide türleri yetişmektedir (Topçuoğlu ve ark. 1996, Çağlayan ve ark. 1998, Sandal 2009, Aybeke ve ark. 2009). Ticari salep tozu çeşitleri içinde Muğla, Kahramanmaraş ve Kastamonu salebinin kalitesi araştırılarak en iyiler içinde belirtilmiştir (Sezik ve Özer 1983, Kasperek ve Grimm 1999, Sandal 2009).

Salep tozu; *Orchis*, *Anacamptis*, *Ophrys*, *Serapias*, *Himantoglossum*, *Barlia*, *Platanthera* gibi ovoid yumrulu olanlarla *Dactylorhiza* gibi parçalı yumruya sahip orkidelerin değişik türlerinin kurutulmuş yumrularının öğütülmesi ile elde edilmektedir. Salebin elde edildiği orkide türlerinde, bir önceki yıla ait eski diğeri ise genç olmak üzere iki yumru bulunmaktadır. Bitki çiçekte iken yeni yumru toplanır; daha büyük, sert, buruşuk, kirli beyaz renkte olan eski yumru bırakılmaktadır. Toplanan taze, küçük, kök yumrular; soğuk suyla yıkanarak temizlenmektedir. Süt, peyniraltı suyu veya ayran ile enzimatik faaliyetleri durdurmak, yumuşatmak ve dış kabuğunu gevşetmek amacıyla 10-15 dk haşlanmaktadır. İpe dizildikten sonra tercihen gölgede, havadar bir alanda 7-10 gün kurutulmaktadır. Bu işlemler sırasında yumrular ağırlığının yaklaşık %87,5'ini kaybetmektedir. Kurutulmuş salep yumruları oval, bazen çatallı, 1-4 cm uzunluğunda, yarı saydam, kirli-beyaz sarı renkte, yüzeyleri pütürlü ve hafif lezzetlidir. Kurutulan bu yumrular daha sonra birkaç kez düşük devirli değirmende ya da makinelerde öğütüldükten sonra toz haline getirilmekte ve ince eleklerden geçirilerek kaba parçacıklarından ayrılarak kullanıma hazır salep tozu elde edilmektedir (Akgül 1993, Çağlayan ve ark. 1998, Kaya ve Tekin 2001, Erdem ve ark. 2004, Telcioğlu 2006, Farhoosh ve Riazi 2007, Tekinşen ve Güner 2010, Cital ve Tekinşen 2011, Erzurumlu ve Doran 2011).

Salep tozunun bileşimi su, müsilaj, nişasta, şeker, protein, kül'den oluşmaktadır. Türkiyenin farklı bögelerinden toplanan salep tozlarının bileşimleri Çizelge 2.3.2.'de verilmiştir. Çeşitli kaynaklara göre, salebin bileşiminde taze iken mikro oranda uçucu yağ bulunmaktadır ve içerdiği bulunan %2 oranındaki kül, fostat, potasyum ve kalsiyum kloritten oluşmaktadır (Farhoosh ve Riazi 2007, Cital ve Tekinşen 2011).

Çizelge 2.3.2. Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan salep tozlarının kimyasal kompozisyonları

BÖLGE	BİLEŞENLER					
	MÜSİL AJ	NİŞASTA	ŞEKER	SAKKAR OZ	SU	KÜL
Antalya	40,12	8,40	0,90	1,11	12,38	9,68
Kastamonu	39,88	13,86	1,95	0,76	11,32	4,66
Kahramanmaraş	11,62	19,13	0,30	1,84	8,62	3,59
Muğla	44,04	13,04	1,01	1,95	9,76	2,52
Silifke	41,02	17,70	0,90	1,40	10,22	4,08
Van	17,62	17,77	0,96	1,23	9,64	2,45

Salep tozunun müsilaj (zank) özelliği; bileşiminde yer alan glukomannanın yapısından kaynaklanmaktadır. Moleküler ağırlığı; 1×10^4 ile 2×10^6 arasında değişen glukomannan; β -1-4 bağlarını içeren β -D-mannoz ve χ -D-glukoz düz zincirli monomerlerinden oluşan bir polisakkarittir. Glukomannadaki mannoz/glukoz oranı 1,5:1 ile 4,2:1 arasında değişmekte olup salep tozu için genellikle bu oran 3,2:1'dir (Karaman ve ark. 2012, Tester ve Al-Ghazzewi 2012). Birçok bitkiden elde edilen glukomannan nötral bir polisakkarit olup, bazı yapısal özelliklerle birlikte enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. İnsan vücudunda bazı polisakkaritler "karbonhidratlı" veya "sindirilebilir" olarak tanımlanırken, bazıları ise "sindirimi güç", "sindirilemeyen", "diyet lifi" ya da "karbonhidrat olmayan" olarak tanımlanmaktadır. Sindirilebilir polisakkaritler, insan vücudunda yer alan sindirim enzimleri tarafından ince bağırsakta fermente olurken, glukomannan gibi sindirilemeyen polisakkaritler ise ince bağırsaktan fermente olmadan kalın bağırsağa taşınarak orada fermentasyona uğramaktadırlar. Böylece, gıda bileşenlerinin bağırsağa geçişini sağlamakta ve kolonda belirli bir hacim kaplayıp fermentasyon matriksinin oluşmasına katkıda bulunmaktadırlar (Wu ve Peng 1997, Wong ve ark. 2006, Al-Ghazzewi ve ark. 2007).

Glukomannan'ın fonksiyonel özellikleri şu şekilde belirtilmektedir;

- Kabızlığı önleyici olarak kullanılan diyet liflerini içermektedir.
- Çözünabilir diyet lifleri gibi bağırsaktaki safra asitlerine bağlanıp bunların dışkı yoluyla vücuttan atılmalarını sağlayarak kandaki kolesterol miktarının ve diğer kan yağlarının düşmesine katkıda bulunmaktadır.
- Yumuşatıcı, bağırsaktaki divertikül iltihabını söktürücü özelliğindedir.

- Midede tokluk hissi oluşturmaktadır.
- Bağırsaklarda fermente olabilir substrat (prebiyotik) özellikte olup bağırsak sistemini düzenlemektedir.
- Midede patojen gelişimini önlemekte ve mide kanseri riskini azaltmaktadır.
- Aflatoksin toksitesini azaltıcı etkiye sahiptir.
- Kolesterolü bağlayıcı niteliktedir. Günde birkaç gram glukomannanın toplam kan kolesterolünü, kötü kolesterolü ve trigliserid'i düşürdüğü ve bazı durumlarda da iyi kolesterolü artırdığı klinik çalışmalarla gösterilmiştir.
- Diyabetik hastalar tarafından metabolizmaya alındığında, glukoz absorpsiyonunun kontrolünü sağlamaktadır.
- İnsan vücudunda mukoza zarını koruyarak solunum yollarının temizlenmesini sağladığı ve bronşit, mide ülseri gibi hastalıkları tedavi edici özellikte olduğu saptanmıştır (Luo 1992, Vuksan ve ark. 2001, Gallaher ve ark. 2002, Chen ve ark. 2003, Loening-Baucke ve ark. 2004, Martino ve ark. 2005, Torrecillas ve ark. 2007, Tester ve Al-Ghazzewi 2012).

Ülkemizde özellikle kış aylarında tüketilen salep içeceği, *Orchis*, *Anacamptis*, *Ophrys*, *Serapias*, *Himantoglossum*, *Barlia* gibi ovoid yumrulu olanlarla *Dactylorhiza* gibi parçalı yumruya sahip orkidelerin değişik türlerinin kurutulmuş yumrularının öğütülmesi ile elde edilen salep tozu ve şekerin süt ile kaynatılmasıyla üretilmektedir. Salep içeceği, kış aylarında vücudu sıcak tutan, soğuk algınlığına karşı direnç sağlayan, özellikle süt ile birlikte hazırlandığında oldukça besleyici olan geleneksel bir içecektir. (Sezik 1984, Baytop 1999, Tekinşen ve Güner 2010). Salep içeceğine kıvam ya da Maraş dondurmasına geç erime ve sertlik sağlayan, salep tozunun bileşimdeki glukomannanlardır. Yapıda bulunan az miktardaki nişasta da, şişme özelliği dolayısıyla, glukomannanlara yardımcı etkide bulunmaktadır (Sezik 1984, Gümüş 2009).

2.4.Prebiyotik Etkinin Değerlendirilmesinde Nicel Yaklaşımlar

Bir substratın prebiyotik etkisinin belirlendiği fermentasyon çalışmaları nicel ve karşılaştırmalı analizler yapılarak, özümseme oranı, bakteriyel popülasyonda değişim, prebiyotik indeks (PI), düzeltilmiş prebiyotik indeks (PI_m), prebiyotik aktivite skoru (PAS), toplam KZYA üretimi, laktik asidin toplam KZYA'ne oranı ve prebiyotik

etkinin ölçülmesi (MPE) gibi eşitlikler ile ifade edilmektedir (Palframan ve ark. 2003, Vulevic ve ark. 2004, Manderson ve ark. 2005, Cardareli ve ark. 2007, Huebner ve ark. 2007, Kondepudi ve ark. 2012, Hashemi ve ark. 2013).

2.4.1.Özümseme Oranı

Özümseme oranı, belirli bir zamanda kolonda bakteriler tarafından gerçekleşen sakkaritik fermentasyon sonucu ortamda kalan substratın konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır.

$$S_t = S_0 - A_r t$$

S_t : Fermentasyon sonundaki substrat konsantrasyonu

S_0 : Başlangıçtaki substrat konsantrasyonu

A_r : Özümseme oranı

ile ifade edilmektedir. Özümseme oranı bakteriyel gelişimin logaritmik fazında maksimum değerine ulaşmaktadır (Vulevic ve ark. 2004, Cardarelli ve ark. 2007).

2.4.2.Bakteriyel Populasyonda Değişim

Bakteri grupları fermentasyon sürecinde aşamalı olarak gelişim göstermekte olup bu gelişim populasyon miktarının zamana karşı logaritmik eğrisi elde edilmesinde önemlidir (Vulevic ve ark. 2004, Cardarelli ve ark. 2007). Bakteriyel populasyonda meydana gelen değişim hesaplanırken aşağıda yer alan eşitlik kullanılmaktadır:

$$\ln N_t = \ln N_0 + \mu t$$

N_t : Fermentasyon sonrası bakteri sayısı

N_0 : Başlangıçtaki bakteri sayısı

μ : Spesifik gelişme oranı (s^{-1})

2.4.3.Prebiyotik İndeks (PI)

Prebiyotik etki, bakteriyel populasyondaki değişim olarak tanımlanırken prebiyotik indeks (PI) eşitliğinde, fermentasyon boyunca bakteriyel gruplardaki değişim temel

alınmış ve bu gruplar eşitliğe *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium* ve *Bacteriodes* türlerinin sayıları olarak dahil edilmişlerdir. Buna göre prebiyotik indeks (PI) eşitliği :

$$\mathbf{PI=(Bif/Total)-(Bac/Total)+(Lac/Total)-(Clos/Total)}$$

Bif: inokulasyon / örnekleme sırasındaki *Bifidobacterium* türlerinin sayısı

Lac: inokulasyon / örnekleme sırasındaki *Lactobacillus* türlerinin sayısı

Bac: inokulasyon / örnekleme sırasındaki *Bacteriodes* türlerinin sayısı

Clos: inokulasyon / örnekleme sırasındaki *Clostridium* türlerinin sayısı

Total: inokulasyon / örnekleme sırasındaki Toplam bakteri sayısı

olarak ifade edilmektedir.

PI skorları daha önceki çalışmaların kalitatif sonuçları ile karşılaştırıldığında benzer sonuçların elde edildiği ancak kalitatif verilerle yalnızca bir ürünün prebiyotik etkisinin iyi, orta veya zayıf olduğuna karar verebilirken, prebiyotik indeks (PI) eşitliği ile prebiyotik etkinin ölçüsü daha net sonuçlarla verilmektedir. Eşitliğe göre *Bifidobacterium/Lactobacillus* oranı arttığında pozitif etki, bu populusyona karşı *Bacteriodes/Clostridia* oranı arttığında negatif etki görülmektedir (Palframan ve ark. 2003).

2.4.4.Düzeltilmiş Prebiyotik İndeks (PI_m)

Üstel faz boyunca bakteriler yüksek besin konsantrasyonunda en yüksek spesifik gelişim oranına (μ_{max}) sahiptirler. Bu nedenle μ_{max} ; spesifik şartlar altında bakterilerin gelişme kabiliyeti olarak tanımlanarak farklı bakteri ve substratlar için çeşitlilik göstermektedir. Bakteriyel populusyondaki değişim μ_{max} ve PI eşitliğinin birleştirilmesiyle elde edilen düzeltilmiş prebiyotik indeks (PI_m) formülü ile hesaplanabilmektedir. Düzeltilmiş prebiyotik indeks (PI_m) (Puupponen-Pimia ve ark. 2002, Palframan ve ark. 2003, Cardarelli ve ark. 2007):

Düzeltilmiş prebiyotik indeks PI_m:

$$\mu_{max}Bif + \mu_{max}Lac + \mu_{max}Erec - \mu_{max}Bac - \mu_{max}Clos - \mu_{max}Ec + \mu_{max}SRB$$

Bif: *Bifidobacterium* türlerinin sayısı

Lac: *Lactobacillus* türlerinin sayısı

Erec: *Eubacterium* türlerinin sayısı

Bac: *Bacteriodes* türlerinin sayısı

Clos: *Clostridium* türlerinin sayısı

Ec: *Escherichia coli*

SRB: Sülfat indirgeyen bakteri

olarak ifade edilmektedir. *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerinin maksimum gelişme oranındaki yükseliş pozitif etkiyi gösterirken, diğer bakteri gruplarının maksimum gelişim oranındaki yükseliş negatif etkiyi göstermektedir (Cardarelli ve ark. 2007).

2.4.5. Prebiyotik Aktivite Skoru (PAS)

Prebiyotik aktivite, belirli fermentasyon süreleri içerisinde probiyotik bir mikroorganizmanın gelişimini destekleyen substrat ile glukoz gibi prebiyotik olmayan substratlar üzerinde mikroorganizma gelişiminin logaritmik konsantrasyon oranının enterik mikroorganizmalar ile karşılaştırılmasıdır. Prebiyotik substratların, probiyotik suşlar tarafından glukoz kadar iyi metabolize edilmesi pozitif prebiyotik aktivitenin oluşmasını sağlamaktadır (Huebner ve ark. 2007).

Prebiyotik aktivite skoru (PAS) aşağıda verilen eşitlikle hesaplanmaktadır:

$$PAS = \frac{[(\text{Probiyotik bakteri sayısı}_{24} \text{ Prebiyotik log cfu mL}^{-1}) - (\text{Probiyotik bakteri sayısı}_{0} \text{ Prebiyotik log cfu mL}^{-1})]}{[(\text{Probiyotik bakteri sayısı}_{24} \text{ Glukoz log cfu mL}^{-1}) - (\text{Probiyotik bakteri sayısı}_{0} \text{ Glukoz log cfu mL}^{-1})]} \cdot \frac{[(\text{Enterik bakteri sayısı}_{24} \text{ Prebiyotik log cfu mL}^{-1}) - (\text{Enterik bakteri sayısı}_{0} \text{ Prebiyotik log cfu mL}^{-1})]}{[(\text{Enterik bakteri sayısı}_{24} \text{ Glukoz log cfu mL}^{-1}) - (\text{Enterik bakteri sayısı}_{0} \text{ Glukoz log cfu mL}^{-1})]}$$

Huebner ve ark. (2007)'de yaptığı diğer bir çalışmada geliştirilen prebiyotik aktivite skoru (PAS) formülüne göre; hücre yoğunlukları UV-spektrofotometre kullanılarak 600 nm'de ölçülerek de hesaplanabilmektedir. Buna göre PAS eşitliği aşağıda belirtildiği gibidir:

$$PAS = \frac{[(\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{24} \text{ Prebiyotik OD 600}) - (\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_0 \text{ Prebiyotik OD 600})]}{(\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{24} \text{ Glukoz OD 600}) - (\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_0 \text{ Glukoz OD 600})} \cdot \frac{[(\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{24} \text{ Prebiyotik OD 600}) - (\text{Enterik hücre yoğunluğu}_0 \text{ Prebiyotik OD 600})]}{(\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{24} \text{ Glukoz OD 600}) - (\text{Enterik hücre yoğunluğu}_0 \text{ Glukoz OD 600})}$$

2.4.6. Kısa Zincirli Yağ Asitleri (KZYA) Üretimi

Bifidobacterium ve *Lactobacillus* türlerinin etkisiyle gerçekleşen sakkarit fermentasyonunun son ürünleri olarak laktik asit ile asetik asit (C2:0), propiyonik asit (C3:0) ve bütirik asit (C4:0) gibi KZYA'leridir. Kolonda mineral emiliminin artırılması, kolon hücrelerinin aktivasyonu, serum içeriği ve dışkının asitlendirilmesi ve lipid metabolizmasının iyileştirilmesi, KZYA'leri ve diğer organik asitlerin üretilmesi temeline dayanmaktadır. Ayrıca KZYA, kolonda epitel hücreleri tarafından enerji kaynağı olarak da kullanılmaktadır (Topping ve Clifton 2001, Cummings ve Macfarlane 2002).

KZYA miktarı prebiyotik substratın yapısına ve probiyotik bakteri türüne bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Cummings 1981, Rycroft ve ark. 2001a). Belirli bir zamanda mikrobiyota tarafından üretilen laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarları hesaplanarak farklı substratların toplam KZYA miktarına etkisi karşılaştırılmaktadır (Palframan ve ark. 2003, Vulevic ve ark. 2004, Roy ve ark. 2006, Cardarelli ve ark. 2007).

Toplam KZYA aşağıda verilen eşitlikle hesaplanmaktadır:

$$T_{KZYA} = A + B + P + L$$

A: Asetik asit

B: Bütirik asit

P: Propiyonik asit

L: Laktik asit

2.4.7.Laktik asidin toplam KZYA'ne oranı

Bifidobacterium ve *Lactobacillus* türleri tarafından prebiyotik fermentasyon sonucu oluşan laktik asit miktarının toplam KZYA miktarına oranı, substratın nicel olduğu kadar nitel özelliklerini de ortaya koymaktadır (Cummings 1997, Vulevic ve ark. 2004, Buriti ve ark. 2005, Cardarelli ve ark. 2007). Bu oran aşağıda yer alan eşitlikle hesaplanmaktadır:

$$\text{Laktik asidin toplam KZYA'ne oranı} = \frac{dL}{dT_{KZYA}}$$

d: fermentasyonun 0. ve 48. saatlerindeki miktarlar arasındaki farkı ifade etmektedir.

2.4.8.Prebiyotik etkinin ölçülmesi (MPE)

Prebiyotik etki, “insan gastrointestinal sisteminde yer alan *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerinin sayısı ve KZYA oranının artmasına bağlı olarak temel bakteriyel mikrobiyotanın gelişmesi” olarak tanımlanmaktadır. Prebiyotiklerin *in vitro* fermentasyonlarının değerlendirilmesi, farklı substratların prebiyotik özellikleri kullanılarak yararlı ve zararlı mikrobiyota kompozisyonunun değiştirilmesi suretiyle yürütülmektedir. Nicel eşitliklerle geliştirilen prebiyotik etki terimi içerisinde, substrat hidrolizasyonu yoluyla sakkaritik fermentasyon, bakteriyel mikrobiyotanın değişimi ve KZYA üretimi yer almaktadır (Rummey ve Rowland 1992, Macfarlane ve ark. 1998, Rycroft ve ark. 2001b, Olano-Martin ve ark. 2002, Palframan ve ark. 2003, Vulevic ve ark. 2004).

Özümleme oranı (A_r), düzeltilmiş prebiyotik indeks (PI_m) ve laktik asidin toplam KZYA'ne oranı eşitlikleri tek bir formül altında toplandığında mikrobiyotanın prebiyotik etkisini belirten tek bir değer elde edilmektedir. MPE eşitliğini tanımlamak amacıyla, bu değerler mikrobiyotanın niteliği baz alınarak MPE değeri olarak adlandırılan pozitif yada negatif değerler alabilmektedir (Manz ve ark. 1996, Vulevic ve ark. 2004). MPE değeri aşağıda belirtilen eşitlik kullanılarak hesaplanmaktadır:

$$MPE = \frac{1}{2} \sqrt{x^2 y^2} + \sqrt{x^2 z^2} + \sqrt{y^2 z^2}$$

- x: Özümseme oranı (A_r)
y: Düzeltilmiş prebiyotik indeks (PI_m)
z: Laktik asitin toplam KZYA'ne oranı

2.5.Konu ile İlgili Literatür Taraması

Kaplan ve Hutkins (2000) *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri tarafından FOS'lerin fermentasyonu üzerine yaptıkları bir çalışmada, 16 adet *Lactobacillus* türünden 12'si; 8 adet *Bifidobacterium* türünden 7'sinin FOS'leri fermente edebilme yeteneğine sahip olduklarını saptamışlardır. Bu amaçla FOS'leri içeren besi ortamlarında hücre yoğunluğu değerleri belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde; *Bifidobacterium* türlerinden *B. adolescentis* 15705, *B. breve* 15698, *B. breve* 15700, *B. infantis* 17930, *B. infantis* 25962 ve *B. longum* 15708'in optik yoğunluklarının 1,3-1,8 arasında değiştiği belirtilmiştir. Çalışmada FOS'in prebiyotik özelliklerinin desteklenmesi amacıyla glukoz içeren besi ortamında da ölçümler yapılmış ve FOS ve glukozun gelişme oranlarının aynı olduğu tespit edilmiştir.

Galakto-, manno-, fruktooligosakkaritler, laktuloz ve diğer prebiyotik substratları (fruktoz, sükroz, raftiloz, inülin, laktitol, sodyum aljinat, laktobiyonik asit) içeren kültür ortamında probiyotik bakterilerin gelişimi üzerine yapılan bir çalışmada, bu prebiyotiklerin *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri üzerine etkisi optik yoğunluk ölçümüne dayanan *in vitro* metodolojiye göre belirlenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, *Bifidobacterium* türleri için absorbans değerleri en yüksek raftiloz ve glukoz içeren besi ortamında 0,34 olarak, en düşük inülin içeren besi ortamında 0,15 olarak kaydedilmiştir. *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerinin suş özelliklerine bağlı olarak bakterilerin fermentasyon süresince bu substratları kullandıkları saptanmıştır (Kneifel ve ark. 2000).

Rycroft ve ark. (2001a) prebiyotik oligosakkaritlerin (Raftiloz P95, Raftilin LS, Laktuloz, KOS, Oligomat 55, SOS) fermentasyon özelliklerini *in vitro* olarak değerlendirdikleri çalışmada, KOS'ler ve laktulozun *Bifidobacterium* türlerinin gelişimini desteklerken, FOS'lerin *Lactobacillus* türlerinin gelişimini desteklediğini, galaktoligosakkaritlerin ise *Clostridium* türlerinin sayısında azalmaya neden olduğunu

saptamışlardır. KZYA'leri miktarının, özellikle laktuloz ve GOS'leri içeren besi ortamlarında daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Rycroft ve ark. (2001b) tarafından gentio-oligosakkaritlerin fermentasyon özellikleri üzerine yapılan bir çalışmada, karışık fekal kültürde 24 saatlik fermentasyon sonucu gentio-oligosakkaritler ile FOS ve maltodekstrin karşılaştırılmıştır. Bakteri popülasyonunu belirlenmesinde FISH (Floresan In Situ Hibridizasyon) metodu kullanılmış, fermentasyon sonu gaz ve KZYA'leri miktarı tespit edilmiştir. İnkübasyon boyunca gentio-oligosakkaritler; *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve toplam bakterilerin gelişimini desteklemiş ancak FOS'ler daha seçici davranarak probiyotik olmayan bakteri gruplarının gelişiminde bir değişikliğe neden olmamışlardır. Gentio-oligosakkaritler ve maltodekstrin fermentasyon sonunda yüksek miktarda kısa zincirli yağ asidi üretirken; gentio-oligosakkaritlerin FOS'lere göre daha düşük miktarlarda gaz ürettiği saptanmıştır. Buna göre, en yüksek laktik asit gentio-oligosakkaritler (21,60 mmol/L) ve maltodekstrinin (21,86 mmol/L) fermentasyonu sonucu elde edilmiş ve FOS (11,44 mmol/L) probiyotik kültürler tarafından diğer karbonhidratlara göre kısmen fermente edilerek daha az miktarda laktik asit üretilmiştir. Propiyonik asit FOS'ler, gentio-oligosakkaritler ve maltodekstrinin fermentasyonu sonucu sırasıyla 7,00; 7,39 ve 7,73 mmol/L olarak saptanırken bütirik asit; FOS'ler, gentio-oligosakkaritler ve maltodekstrinin fermentasyonu sonucu sırasıyla 4,17; 2,16 ve 2,05 mmol/L olarak saptanmıştır.

Lee ve ark. (2002), yengeç ve karides gibi kabukluların dış kabuğundan izole edilen çözünmez sitin polimerinin alkali asetilasyonu sonucu oluşan kitosan polimerlerinin enzimatik hidrolizasyonu ile elde edilen kitosan oligosakkaritlerini (KOS) karbonhidrat kaynağı olarak kullanmışlardır. Kitosan oligosakkaritlerinin *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri üzerindeki etkisi FOS ile karşılaştırılmıştır. FOS'un *B. bifidum*, *B. infantis* ve *L. casei* olmak üzere 3 probiyotik türün gelişimini desteklediği, KOS'lerinin ise *Lactobacillus* türleri ve *B. bifidum*'un gelişimi üzerine daha çok etkisi olduğu belirtilmiştir. %0,5 oranında KOS içeren besi ortamında hücre yoğunluğunun 1'e yakın; %0,5 oranında FOS içeren besi ortamında ise 0,8'den düşük olduğu saptanmıştır. İnkübasyon sonunda *B. bifidum*'un spesifik gelişme oranı değerleri

incelendiğinde, bazal besiyerinde KOS konsantrasyonu %0,4 olduğunda spesifik gelişme oranı değerinde artmış olduğu görülmüştür. Bunu yanında, %1 KOS içeren 24 saat inkübe edilen bazal besiyerinin %0,2-0,4 oranında KOS içeren 18 saat inkübe edilen bazal besi ortamları ile karşılaştırıldığında, 18 saatlik inkübasyon sonunda en yüksek gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, bazal besi ortamlarına %0,1-0,2 FOS ilave edildiğinde de spesifik gelişme oranı ve maksimum gelişmenin KOS ile paralellik gösterdiği, yalnızca %0,4 FOS 'un *B. bifidum*'un gelişimini desteklemediği bildirilmiştir. Bu çalışma kitosan oligosakkaritlerinin etkisi ile *B. bifidum* hücre gelişimi ve spesifik gelişim oranında olumlu yönde değişimler olduğunu ayrıca KOS'lerinin bazı *Enterococcus* türlerinin gelişimini de desteklediğini ve potansiyel prebiyotik gıda bileşeni olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

Martin ve ark. (2002) pektin ve pektik oligosakkaritlerin *in vitro* ortamda bifidojenik özelliklerini karşılaştırdıkları çalışmada, bakteri olarak *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Bacteriodes* türleri ile *E. faecalis* ve *E. coli* kullanmışlardır. Çalışmada karbonhidrat kaynağı olarak kullanılan pektik oligosakkaritler ise yüksek (%66) ve düşük (%8) düzeyde metillenmiş pektinin kontrollü hidrolizi sonucu elde edilmiştir. Saf kültürde seçilmiş *Bifidobacterium* türlerinin spesifik gelişme oranları karşılaştırıldığında, *B. angulatum*, *B. infantis* ve *B. adolescentis*'in yüksek düzeyde metillenmiş pektinden elde edilen pektik oligosakkaritleri içeren besi ortamlarında ve *B. pseudolongum* ve *B. adolescentis*'in düşük düzeyde metillenmiş pektinden elde edilen pektik oligosakkaritleri içeren besi ortamlarında yüksek düzeyde metillenmiş pektin içeren besi ortamlarına oranla daha yüksek gelişme gösterdiği saptanmıştır. Ancak *B. lactis* BB-12, *L. plantarum* ve *L. pentosus*'un 48 saatlik fermentasyon sonunda yüksek düzeyde metillenmiş pektinden elde edilen pektik oligosakkaritleri içeren besi ortamlarında hiçbir gelişme göstermediği, yüksek düzeyde metillenmiş pektin içeren besi ortamlarında ise gelişme gösterdikleri bildirilmiştir.

Probiyotik ve intestinal bakteriler tarafından tahıl bazlı diyet lifi karbonhidratlarının *in vitro* fermentasyonunun Crittenden ve ark. (2002) tarafından araştırıldığı çalışmada, diyet lifi karbonhidratları olarak glukoz, arabinoz, ksiloz, KOS, FOS, arabinoksilan ve ksilan ile birlikte probiyotik olarak 17 adet *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türü ile

diğer intestinal bakteriler olarak *Enterococcus*, *Bacteriodes*, *Clostridium* türleri kullanılmıştır. Fermentasyon özelliklerinin incelenmesi amacıyla, farklı substratları ve probiyotik türleri içeren besi ortamlarının pH değerleri ve spesifik gelişme oranları belirlenmiştir. Buna göre; *B. longum* VTT E-96664 ve *B. longum* VTT E-96702 için fermentasyon sonunda pH değerleri; glukoz, arabinoz, ksiloz, KOS, FOS, arabinoksilan ve ksilan substralarında sırasıyla 4,26-6,35 ve 4,28-6,4 arasında değişmektedir. Ayrıca spesifik gelişme oranları; *B. longum* VTT E-96664 için arabinoz, ksiloz, KOS, FOS substralarında 0,16-0,21 ve *B. longum* VTT E-96702 için 0,06-0,23 arasında değişirken glukoz, arabinoz, ksiloz, KOS, FOS, arabinoksilan ve ksilan içeren besi ortamlarında *B. longum* VTT E-96664 için 0,01-0,36 ve *B. longum* VTT E-96702 için 0-0,33 arasında değiştiği saptanmıştır. *In vitro* fermentasyon süresi sonunda β -glukanın *Bacteriodes* türleri ve *Clostridium beijerincki* tarafından fermente olurken *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* türleri tarafından fermente olmadığı, ayrıca ksilanın hiçbir probiyotik bakteri tarafından fermente olmadığı tespit edilmiştir. Çalışmaya göre birçok *Bifidobacterium* türü ve *L. brevis* yüksek miktarlarda KOS kullanıldığında gelişim göstermektedir. *B. longum* türlerinin ve bunların sinbiyotik kombinasyonları ile ortamda prebiyotik substrat olarak yalnızca arabinoksilan bulunduğu oldukça iyi gelişim gösterdiği ve *Lactobacillus* türleri, *E. coli*, *C. perfringens*, *C. difficile* tarafından fermente edilemediği saptanmıştır.

Gastrointestinal sisteme benzer pH'ın 2,5 olduğu fosfat tampon ve malt, buğday ve arpa ekstraktları ile 4 saat süre ile asitleştirilmiş ortamda *L. plantarum*, *L. acidophilus* ve *L. reuteri* 'nin canlılığının araştırıldığı çalışma, tahıl ürünlerindeki şeker miktarına bağlı olarak malt, arpa ve buğday ekstraktlarının asidik şartlar altında bu bakterilerin canlılığı üzerine koruyucu etki sağladığı saptanmıştır (Charalampopoulos ve ark. 2003).

Vulevic ve ark. (2004) diyet oligosakkaritlerinin potansiyel prebiyotik özelliklerinin *in vitro* olarak belirledikleri çalışmada karbonhidrat kaynağı olarak sükroz, guar gam, sunfiber (diyet lifi içeren prebiyotik ürün), kısmen hidrolize edilmiş guar gam (PHGG), İMO, SOS, FOS, TOS ve bunların karışımları (FOS: PHGG (90:10), TOS: PHGG (90:10), FOS:TOS (50:50)); kültür bakterisi olarak *Bifidobacterium* türleri (Bif 164), *Lactobacillus* türleri (Lab 158), *Eubacterium rectale/Clostridium coccoides* (Erec 482),

Bacteriodes türleri (Bac 303), *Clostridium histolyticum* (Chis 150), *E. coli* (Ec 1531) ve *Desulfovibrio* türleri (Srb 687) kullanılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre; sükroz ve guar gamın fekal kültürde yer alan mikrobiyota tarafından fermente olmasına rağmen, gastrointestinal sistem bakterileri tarafından seçici olmadığı, FOS ve TOS'un probiyotik bakterilerin gelişimini desteklediği ve SOS ve İMO'nun *in vitro* çalışmalarda sınırlı gelişim göstermesine rağmen potansiyel prebiyotik olabileceği saptanmıştır. Ayrıca PHGG, sunfiber ve diğer oligosakkarit kombinasyonlarının yüksek prebiyotik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Değerlendirme sonuçlarına göre, spesifik gelişme oranlarının *Bifidobacterium* türleri için 0,10-0,60 *Lactobacillus* türleri için ise 0,02-0,25 arasında değişmekte olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada, sükroz ve guar gam için spesifik gelişme oranları 0,13 ve 0,21 olarak belirlendiği ve bu oligosakkaritlerin fekal kültürde fermente olmalarına rağmen bağırsak florası tarafından seçici olmadığı ancak benzer oranda gelişim gösteren (kısmen hidrolize edilmiş guar gam) PHGG ve sunfiberin fekal kültürde fermente olmalarının yanında bağırsak florasında yer alan yararlı mikroorganizmaların da gelişimini desteklediği tespit edilmiştir. Fermentasyon süresince en yüksek laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit 8-10. saatler arasında üretilmiş olup ortalama laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarları, ortamda sükroz, TOS, FOS ve guar gam varlığında sırasıyla laktik asit için 0,4-1,1 g/L; asetik asit için 3,2-2,5 g/L; propiyonik asit için 0,6-1,0 g/L; bütirik asit için 0,1-0,6 g/L arasında hesaplanmıştır.

B. bifidum NCIMB 41171 kullanılarak prebiyotik GOS'lerin sentezinin araştırıldığı çalışmada, *B. bifidum* NCIMB 41171 sağlıklı gönüllülerin fekal örneklerinden izole edilmiş ve β -galaktosidaz enzimi kullanılarak laktozdan GOS sentezlenmiştir. Besi ortamlarında *B. bifidum* NCIMB 41171 için spesifik gelişme oranları ve üretilen laktik ve asetik asit miktarları belirlenmiştir. Spesifik gelişme oranları GOS karışımlarından elde edilen substratlarda 0,89 olarak belirlenmiş ve bağırsak florasında yer alan *Bifidobacterium* türlerinin gelişimi ve metabolik aktivitesi üzerinde etkili olduğu ortaya konmuştur. GOS dışındaki diğer substratlarda üretilen laktik asit miktarı 8,2-15,4 mM arasında değişirken, ortamda GOS varlığında üretilen laktik asit miktarı 5,0 mM olarak saptanmış, en yüksek asetik asit miktarının ise GOS ve FOS içeren besiyerlerinde olduğu sırasıyla 12,0 ve 11,6 mM olarak belirlenmiştir. Ticari oligosakkaritlerle

karşılaştırıldığında özellikle GOS'lerden izole edilen prebiyotiklerin laktik aside oranla daha düşük miktarda asetik asit ürettikleri ortaya konulmuştur. Fermentasyon deneyleri sonucunda *B. bifidum*'un gelişimi öncelikli olarak GOS karışımlarından üretilen substratlar kullanıldığında arttığı ve ticari oligosakkartilerle (glukoz, fruktoz, maltoz, sellebioz, rafinoz, KOS, FOS, GOS, inülin) karşılaştırıldığında hızlı bir gelişim ile KZYA'leri üretiminde artış olduğu bildirilmiştir (Tzortzis ve ark. 2005).

Bifidobacterium türleri tarafından FOS ve inülinin fermentasyonunun saf ve fekal kültürler kullanılarak karşılaştırıldığı çalışmada, 48 saatlik fermentasyon sonucu optik yoğunlukları, pH ve üretilen KZYA miktarı belirlenmiştir. Fermentasyon sonunda, FOS için en düşük pH değerleri *B. infantis* PRO 1 ve *B. adolescentis* MB 239 içeren besi ortamlarında ~ 4,2-4,5; inülin için ise *B. bifidum* DSMZ 20082 ve *Bifidobacterium* türleri ALB 3 ~ 4,8-5,0 olarak saptanmıştır. Buna göre, FOS için en yüksek optik yoğunluk *B. infantis* PRO 1 içeren besi ortamlarında ~ 2-2,1 OD₆₀₀; inülin için ise *Bifidobacterium* türleri ALB 3 ~ 1,8-2 OD₆₀₀ olarak saptanmış, bütün suşların FOS ve glukozu fermente ederek gelişme gösterdiği saptanmıştır. Birçok türün FOS'i fermente ettiği, inülinin ise yalnızca 8 *Bifidobacterium* türü tarafından fermente olduğu ayrıca bu karbon kaynaklarının fekal kültürlerde farklı miktarlarda KZYA ürettikleri ve inülin için temel fermentasyon ürününün bütirik asit, FOS için ise asetik ve laktik asit olduğu tespit edilmiştir (Rossi ve ark. 2005).

Holt ve ark. (2005), alternansükrazdan elde edilen oligosakkartilerin çeşitli intestinal bakterilerin gelişimine etkisini araştırdıkları çalışmada, karbonhidrat kaynağı olarak alternansükraz oligosakkartileri (gentiobioz, maltitol, maltoz, melibiyoz, rafinoz) ile intestinal bakterileri olarak *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteriodes*, *Enterobacter*, *Salmonella* türleri ve *E. coli* kullanmışlardır. Bakteri gelişimini tespit etmek amacıyla her mikroorganizma 24-48 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi sonunda optik yoğunlukları ölçülerek karşılaştırma yapılmıştır. Buna göre optik yoğunluk değerleri, *B. bifidum* dışında diğer probiyotik türler için gentiobioz içeren besi ortamlarında 0,15-1,11; maltitol içeren besi ortamlarında 0,13-0,95; maltoz içeren besi ortamlarında 0,29-0,92; melibiyoz içeren besi ortamlarında 0,16-0,85 ve rafinoz içeren besi ortamlarında 0,08-1,09 arasında değişmektedir. İnokulum içerisinde çözünmüş

karbon kaynağı olarak rafinoz bulunduğunda gelişim hızının yavaşladığı ve glukoz için 0,10/saat, rafinoz için 0,17/saat olarak hesaplandığı bildirilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, alternansükraz oligosakkaritlerinin birçok *Bifidobacterium* türünün gelişimini desteklediği ancak *Lactobacillus* türleri, *Bacteriodes thetaiotaomicron*, *Coliform* ve diğer patojenik bakterilerin gelişimi üzerine bir etkisi olmadığı saptanmıştır.

Bergamot kabuğundan enzimatik yollarla elde edilen pektik oligosakkaritlerince zengin ekstraktın prebiyotik aktivitesinin *in vitro* olarak değerlendirildiği bir çalışmada, fekal bakterilerin tek ve karışık kültürleri kullanılarak prebiyotik aktiviteleri belirlenmiş ve FOS'lerle karşılaştırılmıştır. *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerinin gelişimi ortama bergamot ekstraktı ilave edildiğinde pozitif yönde etkilenirken, *Clostridium* türlerinin gelişimi negatif yönde etkilenmiştir. Bakteri grupları için spesifik gelişme oranlarının; *Bifidobacterium* türleri için 2,29-5,16; *Lactobacillus* türleri için 0,89-2,84; *Bacteriodes* türleri için 0,18-0,46; *Clostridium* türleri için ise 0,29-0,41 olduğu saptanmıştır (Mandalari ve ark. 2006).

Su ve ark. (2007) *in vitro* ortamda prebiyotik tek kültürlerin gelişimini destekleyen prebiyotikler üzerine yaptıkları çalışmada, 11 farklı tipte ticari karbonhidrat bileşeni (FOS, İnülin, Arabinogalaktan, SOS, β -glukan, β -glukan konsantresi, D(+)-rafinoz, Pentahidrat, Glukoz) ile *L. acidophilus* LAFTİ L10, *B. animalis lactis* LAFTİ B94 ve *L. casei* LAFTİ L26 türlerinin 48 saatlik fermentasyonu sonucu optik yoğunlukları ölçülerek prebiyotik kültürlerin gelişmeleri karşılaştırılmıştır. Prebiyotiklerin *B. animalis lactis* LAFTİ B94 ile fermentasyonları sonucu elde edilen veriler incelendiğinde, *B. animalis lactis*'in fermentasyonun 26. saatinde SOS'ini içeren RCM bazal besiyerinde maksimum gelişim gösterdiği (OD 3,2); bunu glukoz (OD 3,0) ve rafinozun (OD 2,6) takip ettiği, diğer oligosakkaritlerde ise optik yoğunluk değerinin 0,78-1,60 arasında değiştiği saptanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları üç prebiyotik türünün de belirli orandaki substratı kullanabildiğini göstermektedir. Ayrıca, *B. animalis lactis* LAFTİ B94 ve *L. acidophilus* LAFTİ L10 için en fazla gelişme SOS içeren besiyerinde saptanırken *L. casei* LAFTİ L26 için ise FOS içeren besiyerinde belirlenmiş ve diğer karbonhidrat kaynaklarında da tüm mikroorganizmalar için benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Ticari prebiyotiklerin prebiyotik aktivitesi üzerine proses şartlarının etkisinin araştırıldığı çalışmada, prebiyotik olarak FOS ve inülin; bakteri türü olarak *L. paracasei* 1195 ve *E. coli* ECOR 1, 2 ve 22 kullanılmıştır. Prebiyotik aktivite analizleri için öncelikle prebiyotikler, sitrat-fosfat tampon çözeltilerinde (%10 FOS ve %2 inülin) çözündürülmüş ve her biri düşük pH (pH 3-6), düşük pH da ısıl işlem (85°C'de 30 dk) ve maillard reaksiyon (pH 7 de, %1 glisin ile 85°C'de 6 saate kadar) şartlarının uygulandığı üç farklı işleme maruz bırakılmıştır. Düşük pH'da ısıl işlem uygulandıktan sonra prebiyotik aktivitede azalma meydana gelmiş ve FOS ürünlerinden biri en az derecede stabiliteye ulaşmıştır. Diğer durumlar ise aktivitede daha az değişimlere neden olmuştur. Bu işlemlerden sonra eğer FOS ve inülinin prebiyotik aktivite skorlarından bir değişim meydana gelmemişse, prebiyotikler fonksiyonel olarak stabil demektir. Bu çalışmalar, prebiyotiklerin fonksiyonel gıda bileşeni olarak seçilmesinde ve hangi prosesin prebiyotik aktiviteyi olumlu yönde etkileyip etkilemediğinin belirlenmesinde bir temel oluşturmaktadır. FOS ve inüline düşük pH (pH 3-6) şartları uygulandıktan sonra prebiyotik aktivite skorları sonuçları değerlendirildiğinde, Raftiloz P95 (pH 3-6 için PAS 0,28-0,31 iken kontrol PAS 0,30), İnulin-S (pH 3-6 için PAS 0,47-0,49 iken kontrol PAS 0,45) ve Raftilin HP (pH 3-6 için PAS 0,40-0,43 iken kontrol PAS 0,42) ile kendi kontrol grupları arasında belirgin bir farklılık görülmediği ve düşük pH değerlerinde bu prebiyotiklerin stabil aktiviteye sahip olduğu ancak Natura Flora P-95 (pH 3-6 için PAS 0,22-0,23 iken kontrol PAS 0,19) örneklerinin prebiyotik aktivite skorlarının kontrol örneklerinden yüksek olduğu belirtilmiştir. Düşük pH da ısıl işlem (85°C'de 30 dk) uygulaması ile yüksek sıcaklıktan dolayı karbonhidratlar hidrolize olmakta ve yapılarında değişiklikler meydana gelmektedir. Prebiyotiklerin bileşimindeki şekerlere hidrolize olması ise probiyotik mikroorganizmaların gelişimini olumsuz yönde etkilenmesine neden olmaktadır. Maillard reaksiyonu (pH 7 de, %1 glisin ile 85°C'de 6 saate kadar) gerçekleştikten sonra ise reaksiyon yan ürünleri prebiyotik aktiviteyi düşürmüştür (Huebner ve ark. 2008).

Sanchez ve ark. (2008) potansiyel prebiyotik kaynağı olarak malt bazlı içecek üretiminde *Bifidobacterium* türlerinin (*B. adolescentis* NCIMB 702204, *B. infantis* NCIMB 702205, *B. breve* NCIMB 702257, *B. longum* NCIMB 702259) gelişmesi üzerine yaptıkları çalışmada, 24 saatlik fermentasyon sonucu pH değerlerini ise

B. infantis, *B. breve* ve *B. longum* için yaklaşık 4,1; *B. adolescentis* için 3,9 olarak belirlemiştir. Ayrıca logaritmik gelişim eğrilerinde bakteriyel populasyondaki değişim 1,5-2,0 log₁₀ artarken; ortalama maksimum spesifik gelişme oranları 0,2/saat olduğu ve üstel fazın sonunda düşük pH'ın etkisiyle toksik metabolitlerin biriktiği tespit edilmiştir. Hidrolizatların *Bifidobacterium* türleri ile 24 saatlik fermentasyonu sonucu spesifik gelişme oranlarını *B. infantis* için 0,21; *B. adolescentis* ve *B. longum* için 0,19; *B. breve* için ise 0,16 olarak hesaplamışlardır. Çalışma sonucunda *Bifidobacterium* türleri için fermentasyon başlangıcında laktik asit miktarının 0,15-0,26 g/L arasında değişmekte olduğu, laktik asit miktarının fermentasyonun 6. saatinde fark edilebilir derecede ve fermentasyonun sonuna kadar kademeli olarak arttığı saptanmıştır. Asetik asit miktarının 0,24-0,51 g/L arasında değişmekte olduğu ve fermentasyonun 6. saatinde farkedilebilir derecede, fermentasyonun sonuna kadar ise kademeli olarak arttığı saptanmıştır. Laktik asit üretiminin *B. adolescentis* için 3,35 g/L ile en yüksek değere sahip olduğu; *B. infantis*, *B. longum* ve *B. breve* için sırasıyla 2,9; 2,8 ve 1,9 g/L olduğu bildirilmiştir. Ancak *B. breve* ve *B. infantis* için fermentasyonun 14. saatinden sonra laktik asit üretimi devam ederken asetik asit üretiminin azaldığı saptanmıştır.

Kültür mantarı olan *Pleurotus ostreatus* ve *Pleurotus eryngii* türlerinin meyve gövdelerinden elde edilen glukanların yapısı ve potansiyel prebiyotik aktivitesi üzerine yapılan çalışmada, biyolojik olarak aktif bir glukan kaynağı olan kültür istiridye mantarı ile 9 adet *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Enterococcus* türü kullanılmıştır. İstiridye mantarı gövdesinden spesifik glukanlar suda kaynatılmak ve sonra alkali ekstraksiyon ile α -amilazında etkisiyle suda çözünen (L1), alkalide çözünen (L2) ve katı fraksiyon (S) olarak elde edilmiştir. Karbon kaynağı olarak mantardan elde edilen L1 ve L2 ekstraktları kullanılmış ve bu mantar ekstraktları polisakkaritlerinin kompozisyonları ile kullanılan probiyotik türlerin bifidojenik özelliklerine bağlı olarak birbirinden farklı gelişim karakteristiği gösterdikleri saptanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, absorbans değerleri besiyerinde suda çözünen L1 fraksiyonu varlığında Lac B için 0,75; Lac D için 0,60; Bif A,B,C için sırasıyla 0,43; 0,59; 0,30 olarak; besi ortamında alkali çözünen L2 fraksiyonu varlığında yalnızca Bif B için 0,4 olarak tespit edilerek diğer suşlar için gelişmenin durmuş veya azalmış olabileceği saptanmıştır. Hesaplanan spesifik gelişme oranı sonuçlarına göre, ortama suda çözünen L1 fraksiyonu ilave edildiğinde *Lactobacillus* türlerinin gelişme hızları kısmen azalırken, *Bifidobacterium*

türlerinden Bif B ve C için gelişme hızları artmış olup 0,22-0,18 olarak belirlenmiş; ortama alkali çözünen L2 fraksiyonu ilave edildiğinde *Lactobacillus* türlerinden yalnızca Lac B için gelişme hızı 0,41 ve *Bifidobacterium* türlerinden Bif B için 0,20 olarak pozitif yönde değişmiş diğer türler arasında ise fazla bir değişim gözlenmemiştir. *Lactobacillus* türlerinin ise *P. ostreatus*'dan elde edilen glukoz ve proteoglukoz ile *Bifidobacterium* türleri ile de *P. eryngii* ekstraktları ile sinbiyotik olarak kullanılabilceği bildirilmiştir (Synytsya ve ark. 2009).

Maischberger ve ark. (2009) β -galaktosidaz enzimi kullanılarak *L. reuteri*'den elde edilen, TOS, GOS ve vivinal GOS'in birleşiminden oluşan yeni bir GOS karışımı elde etmişlerdir. Bu oligosakkaritleri içeren besi ortamında *Bifidobacterium* (3 tür) ve *Lactobacillus* (8 tür) türlerinin saf ve karışık kültür fermentasyon yetenekleri çalışmada araştırılmıştır. GOS karışımlarını içeren besi ortamında *B. animalis*, *B. animalis* subsp. *lactis*, *B. longum* için optik yoğunluk değerleri sırasıyla 0,95; 0,78 ve 0,79; glukoz içeren besi ortamında ise 1,22; 1,05; 0,78 olarak saptanmıştır. En yüksek spesifik gelişme oranları üç farklı donörde *Bifidobacterium* türleri için GOS karışımlarını içeren besi ortamında 0,50; 0,56; 0,34; FOS içeren besiyerlerinde ise 0,50; 0,52; 0,29 olarak belirlenmiştir. *Bifidobacterium* türlerinin en yüksek probiyotik aktiviteye sahip olduğu ve en iyi gelişme gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle oligosakkarit karışımlarının yeni karbonhidrat bazlı fonksiyonel gıdalarda katkı bileşeni olarak kullanılabilceği belirlenmiştir.

Tayland'da yetişen kırmızı ve beyaz guava meyvesinin (*Pisidium guajava L.*) biyoaktif bileşenleri ve prebiyotik aktivitesi üzerine yapılan bir çalışmada, *L. acidophilus* LA-5 ve *B. lactis* BB-12 kültürlerinin prebiyotik aktivite skorları, beyaz guava için 0,12 ve 0,28; kırmızı guava için 0,13 ve 0,29 olarak saptanmıştır (Thuaytong ve Anprung 2011).

He ve ark. (2011) FOS, KOS, GOS, İnulin, İMO ve stakiyoz içeren 6 farklı çeşit prebiyotiğin *B. bifidum*'un gelişimi üzerine etkisini incelemişlerdir. Buna göre besi ortamında FOS oranı %0 iken pH 4,50; ortama %0,4 oranında FOS ilave edildiğinde pH 4,48; ortamda inülin oranı %0 iken pH 4,68; ortama %1 oranında inülin ilave

edildiğinde pH 4,58 olarak saptanmıştır. Buna göre besi ortamında FOS oranı %0 iken hücre yoğunlukları (OD₆₀₀) 1,240; ortama %0,4 oranında FOS ilave edildiğinde 1,250; ortamda inülin oranı %0 iken 1,410; ortama %0,2 oranında inülin ilave edildiğinde 1,465 olarak saptanmıştır. MRS besi ortamında *B. bifidum* için FOS ve inülin optimum konsantrasyonu 0,4 ve 0,2 olarak tespit edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre inülin ve FOS, GOS, KOS'lerin *B. bifidum*'un gelişimini desteklediği, İMO ve stakiyozun *B. bifidum*'un gelişimi üzerine etkisi olmadığı ayrıca substrat konsantrasyonu arttıkça canlı bakteri sayısının azaldığı tespit edilmiştir.

Anoectochilus formosanus (Orchidaceae) 'dan elde edilen sulu ekstraktlar (SAEAF) ve bunlardan izole edilen sindirilemeyen polisakkaritlerin, karbonhidrat kaynağı olarak kullanılması ile bunların *B. longum*, *B. breve* ve *L. acidophilus* üzerindeki prebiyotik etkileri incelenmiştir. SAEAF'nin *B. breve* ve *B. longum*'un gelişimini desteklediği hücre yoğunluğu değerlerinin (OD₆₀₀) 50 mg/mL konsantrasyonda 18 saatlik fermentasyon sonucu 0,200 ve 0,271 olarak diğer mikroorganizmalardaki hücre yoğunluğu değerlerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kontrol, 2 mg/mL sindirilemeyen polisakkaritler ve inülin içeren besiyerlerinde 18 saatlik inkübasyonun ardından hücre yoğunlukları (OD₆₀₀) 0,198; 0,319 ve 0,281 olarak saptanmıştır. 18 saatlik inkübasyon sonunda kontrol grubu *B. breve* ve *B. longum* spesifik gelişme oranları sırasıyla 0,201 ve 0,173; ortama 2 mg/mL sindirilemeyen polisakkaritler ilave edildiğinde *B. breve* için spesifik gelişim oranı 0,490; ortama 2 mg/mL inülin ilave edildiğinde *B. breve* için spesifik gelişim oranı 0,470 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada, sulu ekstraktların *Bifidobacterium* türlerinin gelişimini desteklerken, *L. acidophilus* ve *C. perfringens*'in gelişim eğrisinde bir değişiklik göstermediği saptanmıştır. Sulu ekstraktlardan elde edilen sindirilemeyen polisakkaritlerin oldukça iyi prebiyotik karakteristik gösterdiği belirtilmiştir (Yang ve ark. 2012).

Polari ve ark. (2012) probiyotik bakteriler için karbon kaynağı olarak ladinden ekstrakte edilen GOS kullanılması üzerine yaptıkları çalışmada, *Bifidobacterium* türlerinin hemiselüloz bazlı sakkaritleri fermente edebilme yetenekleri araştırılmıştır. GOS polisakkaridi, ladin kabuk altı tabakasından hızlandırılmış ASE 300 solvent ekstraktörü kullanılarak 170 °C'de 20 dk basınçlı sıcak su uygulaması ile ekstrakte edilmiştir.

Çalışmada, probiyotik bakterilerin canlılığı, *B. lactis*'in GOS içeren besiyerine adaptasyonu, oligosakkaritlerin *L. rhamnosus*'un gelişimini destekleyip desteklemediği, sakkaritik fermentasyonun asitliğe etkisi ve GOS'ın probiyotik etkisi incelenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, *B. lactis* Bb12 için başlangıç pH'sı 6,5 iken 3 günlük fermentasyon sonunda; GOS içeren ortamda pH 5,4; MOS içeren besi ortamında pH 5,2; FOS içeren ortamda pH 4,8; KOS içeren besi ortamında pH 4,2 olarak saptanmıştır. Hücre yoğunluğu değerleri karşılaştırıldığında; ortamda FOS ve KOS varlığında *B. lactis* Bb 12 için yaklaşık 1,4-1,5; GOS'lere adapte edilmiş *B. lactis* Bb 12 için ise 1,5-1,6; *B. longum* JCM 1217 için 0,9-1,7 ve *L. rhamnosus* GG için 1,4-1,2 olarak kaydedilmiştir. Sonuç olarak, ortamda GOS ve onun hidroliz ürünleri bulunmasının, *Bifidobacterium* türlerinin gelişim oranları üzerine önemli etki yarattığı, probiyotik bakterilerin gelişmesinin hızlanarak, canlı mikroorganizma sayısının en yüksek değere ulaştığı ve florada uzun periyotlarda canlı kalabildiği tespit edilmiştir.

Glukoz, fruktoz, sükroz, 1-kestoz, orafti P95 ve çeşitli FOS bileşenleri içeren besi ortamında *L. acidophilus*'un gelişiminin incelendiği çalışmada, *L. acidophilus*'un FOS karışımlarından özellikle 1-kestozu fermente ederken, nistozu metabolize edemediği saptanmıştır. Buna göre, hücre yoğunlukları fruktoz ve sükroz içeren besi ortamında 0,880; glukoz-kestoz ve glukoz-nistoz içeren besi ortamında sırasıyla 1,903 ve 0,827; orafti P95 içeren besi ortamında 2,791 ve sükrozun yanında nistoz/kestoz yer alan besi ortamında 0,600-0,700 olarak saptanmıştır. Fermentasyon sonucu 6,1 mg/mL laktik asit; 3,3 mg/mL propiyonik asit ve 3,1 mg/mL bütirik asit üretildiği saptanmıştır (Büyüktortop ve Yiğitarıslan, 2012).

Prebiyotiklerin probiyotik bakterilerin gelişimi üzerine etkilerinin Mumcu ve Temiz (2014) tarafından araştırıldığı çalışmada, 6 adet ticari prebiyotik (FOS, inulin, GOS, SOS, KOS ve laktuloz) ile iki adet *L. acidophilus* (*L. acidophilus* ATCC 4356 ve LA-5) ve iki adet *Bifidobacterium* türü (*B. bifidum* ATCC 15969 ve *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12) kullanılmıştır. Prebiyotiklerin üç farklı konsantrasyonda denendiği çalışmada, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin gelişim performansı ve asit üretme aktiviteleri üzerindeki etkilerinin prebiyotik konsantrasyonu arttıkça artış gösterdiği bildirilmiştir.

Haryadi ve ark. (2013) fosforlanmış dirençli mısır nişastasının prebiyotik aktivitesini araştırdıkları çalışmada, mısır nişastası NaOH katalizörlüğünde POCl₃ (%4) kullanılarak fosforlanmıştır. Elde edilen modifiye nişasta, jelatinize edilmiş, α-amilaz ve glukoamilaz kullanılarak hidrolize edilmiş, saflaştırılmış ve dondurarak kurutulmuştur. Prebiyotik aktivite analizi ise %0,5 oranında dirençli nişasta ve glukoz bulunan besi ortamında probiyotik suşların 48 saat fermentasyonu sonucu hücresel kütle değişimi aynı şartlar altındaki enterik suşların hücresel kütle değişimi ile karşılaştırılarak yapılmıştır. Hücresel kütle verilerine göre, prebiyotik aktivite skorları *L. acidophilus* için 0,04; *L. plantarum* için 3,58 ve *B. longum* için 3,60 olarak tespit edilmiştir.

3.MATERYAL ve YÖNTEM

3.1.MATERYAL

3.1.1.*Bifidobacterium* Türleri

Çalışmada bakteri suşu olarak kullanılan *Bifidobacterium* türleri DSMZ (Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures-Almanya) firmasının kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Bu türler arasında probiyotik özellik gösteren *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* ve *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* türleri seçilmiştir.

3.1.2.*Bifidobacterium* Türlerinin Aktive Edilmesi

Çalışmada kullanılan *Bifidobacterium* türleri Çizelge 3.1.1. 'de belirtilen bazal gelişme ortamına steril şartlar altında ilave edilmiştir. Anaerobik inkübasyon şartlarını sağlamak için, Anaerobik jar (Merck, Germany) adı verilen (2,5 L'lik) plastik kavanozlar ve oksijeni uzaklaştırmak amacıyla Aneorocult (Oxoid, England) adı verilen sistem kullanılmıştır. Bu şartlar sağlandıktan sonra 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda inkübasyona bırakılan kültürler ikinci kez aktivasyonun sağlanması amacıyla *Bifidobacterium* türlerinin asıl gelişme ortamı olan TPY (Çizelge 3.1.1.) sıvı besiyerine ilave edilerek 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda kültürler fermentasyonda kullanılmak üzere aktif hale getirilmiştir.

3.1.3.Salep Tozu Ekstraktının Elde Edilmesi

Araştırmada kullanılan Kastamonu yöresine ait orkide türlerinden elde edilen salep tozu Kadem Sahlepçilik (İstanbul, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Salep tozunun bileşimi Çizelge 3.1.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1.1. *Bifidobacterium* türleri için bazal gelişme ortamı ve Tripton Pepton Maya Ekstraktı sıvı besiyeri bileşimi

Bazal gelişme ortamı*		TPY sıvı besiyeri	
Bileşim	g/L	Bileşim	g/L
Kazein Pepton	10,0	Tripton	10,00
Et ekstraktı	5,0	Pepton	5,00
Maya ekstraktı	5,0	Maya ekstraktı	2,50
Bacto soytone	5,0	Glukoz	5,00
Glukoz	10,0	Tween 80	1
K ₂ HPO ₄	2,0	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	2,00
MgSO ₄ x 7H ₂ O	0,20	MgCl ₂	0,50
MnSO ₄ x H ₂ O	0,05	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,2
Tween 80	1,0 ml	CaCl ₂	0,15
NaCl	5,0	FeCl ₃ .6H ₂ O	0,003
L-cysteine HCl	0,50	L-cysteine HCl	0,5
Tuz solüsyonu CaCl ₂ x 2H ₂ O: 0,25 MgSO ₄ x 7H ₂ O: 0,50 K ₂ HPO ₄ :1,0 KH ₂ PO ₄ :1,0 NaHCO ₃ :10,0 NaCl : 2,0 Saf su:1000 ml	40,0 ml		
Resazurin (25mg/100ml)	4,0 ml		
Saf su	950,0 ml		

*Bazal gelişme ortamı, *Bifidobacterium* türlerinin aktivasyonu için DSMZ firması tarafından önerilmiştir.

Çizelge 3.1.2. Çalışmada kullanılan salep tozunun bileşimi

BİLEŞENLER	%	ANALİZ YÖNTEMİ
Kurumadde	88,72	AOAC 1990
Kül	4,55	AOAC 1990
Protein	6,71	AOAC 1990
Şeker	1,90	Egan ve ark. 1981
Diyet Lifi	6,75	AOAC 985.29

Salep tozunun sulu ekstraktı, Mumcu ve Temiz (2014) ve Hutkins ve Kaplan (2000) tarafından önerilen metod modifiye edilerek hazırlanmıştır. Bu amaçla, stok çözelti salep tozu konsantrasyonu %2,5 olacak şekilde saf su kullanılarak hazırlanmış, çalkalayıcı üzerinde 2 saat süre ile karıştırılmıştır. Daha sonra 0,45 µm delik çaplı membran filtre (Millipore-Stericup-GP) kullanılarak filtre-sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.1.4.Gelişme Ortamı

Bifidobacterium türlerinin salep tozunu fermente edebilme yeteneğini belirlemek için karbonhidrat içermeyen TPY sıvı besiyeri bazal gelişme ortamı olarak kullanılmıştır (Scardovi 1986). Salep tozunun %2,5'lük solüsyonları hazırlanmış ve 0,45 µm delik çaplı membran filtre (Millipore) kullanılarak filtre sterilizasyon işlemi uygulanmıştır. Ardından steril substrat solüsyonları son konsantrasyonu %0,5; %1 ve %2 olacak şekilde temel TPY besi ortamına ilave edilmiştir. Pozitif kontrol olarak glukoz oranı %1 olan temel gelişme ortamı kullanılırken, karbonhidrat içermeyen temel gelişme ortamı ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

3.1.5.Fermentasyon

Bifidobacterium türlerinin salep tozunu fermente edebilme kabiliyetini belirlemek amacıyla substrat steril solüsyonu son konsantrasyonu %0,5; %1 ve %2 olacak şekilde eklenen TPY sıvı bazal besiyerine aktive edilen kültürlerden %2 oranında ilave edilerek 37°C'de 48 saat anaerobik şartlar altında fermentasyona bırakılmıştır. Anaerobik inkübasyon şartlarını sağlamak için, Anaerobik jar (Merck, Germany) adı verilen (2,5 L'lik) plastik kavanozlar ve oksijeni uzaklaştırmak amacıyla Aneorocult (Oxoid, England) adı verilen sistem kullanılmıştır.

3.2.YÖNTEM

3.2.1.Denemenin Düzenlenmesi

Salep tozu içeren bazal ortamda geliştirilen kültürlerden, 0., 12., 24., 36. ve 48. saatlerde örnekler alınmıştır. Ayrıca hiç karbonhidrat içermeyen ve %1 oranında glukoz içeren örnekler kontrol numunesi olarak kullanılmıştır. Çalışmada uygulanan deneme deseni Çizelge 3.2.1.1. 'de verilmiştir.

Çizelge 6.2.1.1. Bazı *Bifidobacterium* türleri tarafından salep tozunun fermentasyonu deneme deseni

BAKTERİ TÜRÜ	SUBSTRAT KONSANTRASYONU (%)	FERMENTASYON SÜRESİ (Saat)														
		0.	12.	24.	36.	48.										
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Kontrol	pH analizi Optik Yoğunluk (OD)														
	% 1 Glukoz															
	%0,5 Salep Tozu															
	% 1 Salep Tozu															
	%2 Salep Tozu															
<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i>	Kontrol	0.					24.					48.				
	% 1 Glukoz															
	%0,5 Salep Tozu															
	% 1 Salep Tozu															
	%2 Salep Tozu															
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Kontrol	Prebiyotik Aktivite Sayısı (PAS) Gelişme Oranı														
	% 1 Glukoz															
	%0,5 Salep Tozu															
	% 1 Salep Tozu															
	%2 Salep Tozu															
<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>longum</i>	Kontrol	Fermentasyon Son Ürünleri Analizi Laktik Asitin Toplam KZYA'ne Oranı														
	% 1 Glukoz															
	%0,5 Salep Tozu															
	% 1 Salep Tozu															
	%2 Salep Tozu															

3.2.2.pH Analizi

Besiyerlerindeki asitlik gelişimleri inkübasyonun 0., 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde pH metre (pH 315i / SET ; WTW, Germany) ile ölçüm yapılarak belirlenmiştir.

3.2.3.Optik Yoğunluk (OD)

Salep tozunu fermente edebilen *Bifidobacterium* türlerinin hücre yoğunluğu fermentasyonun 0., 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde Shimatzu UV 1800 model spektrofotometre kullanılarak 600 nm 'de ölçülmüştür (Kaplan ve Hutkins 2000).

3.2.4.Prebiyotik Aktivite Sayısı

Prebiyotik aktivite sayısı analizi, salep tozu katkılı besiyerinde *Bifidobacterium* türlerinin gelişme yeteneğini karşılaştırmalı olarak tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla salep tozunun yanı sıra prebiyotik özellikte olmayan bir karbonhidrat olan glukoz da substrat olarak kullanılmıştır. Huebner ve ark. (2007)'nin önerdiği yöntemde, bir gecelik kültürler %1 (v/v) oranında, son konsantrasyonda %1 oranlarında glukoz ve salep tozu içeren *Bifidobacterium* türleri için TPY sıvı besiyerine, *Enterococcus* türleri için Triptik Soya (Triptic Soy Broth -TSB; Tryptone 17,00 g/L; Bacto soytone 3,00 g/L; Glukoz 2,50 g/L; K₂HPO₄ 2,50 g/L; NaCl 5,00 g/L) sıvı besiyerine ilave edilmiş ve kültürler 37°C'de anaerobik koşullarda fermentasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0. ve 24. saatlerinde örneklerin hücre yoğunlukları UV-spektrofotometre kullanılarak 600 nm'de optik yoğunluk (OD) ölçülerek aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Bu analizde kullanılan *Enterococcus* türleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir.

$$PAS = \frac{[(\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{24} \text{ Prebiyotik OD 600}) - (\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_0 \text{ Prebiyotik OD 600})]}{[(\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{24} \text{ Glukoz OD 600}) - (\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_0 \text{ Glukoz OD 600})]} \\ \frac{[(\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{24} \text{ Prebiyotik OD 600}) - (\text{Enterik hücre yoğunluğu}_0 \text{ Prebiyotik OD 600})]}{[(\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{24} \text{ Glukoz OD 600}) - (\text{Enterik hücre yoğunluğu}_0 \text{ Glukoz OD 600})]}$$

3.2.5.Gelişme Oranı

Bakteriyel popülasyondaki değişim analizi, salep tozu katkılı besiyerinde *Bifidobacterium* türlerinin gelişme yeteneğini karşılaştırmalı olarak tespit etmek ve

Bifidobacterium türleri için spesifik gelişme oranını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla salep tozunun yanı sıra prebiyotik özellikte olmayan glukoz da substrat olarak kullanılmıştır. Huebner ve ark. (2007)'nin önerdiği yöntemde, bir gecelik kültürler %1 (v/v) oranında, son konsantrasyonda %1 oranlarında glukoz ve salep tozu içeren *Bifidobacterium* türleri için TPY sıvı besiyerine ilave edilmiş ve kültürler 37°C'de anaerobik koşullarda fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyonun 0. ve 24. saatlerinde örneklerde *Bifidobacterium* türleri için TPY agar kullanılarak mikrobiyolojik ekim yapılmış ardından 37°C 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen *Bifidobacterium* türlerinin sayısı (30-300 kob/g) belirlenmiş ve bakteriyel populasyonda meydana gelen değişim aşağıda yer alan eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Olano-Martin ve ark. 2002, Vulevic ve ark. 2004, Cardarelli ve ark. 2007):

$$\ln N_{48.saat} = \ln N_{0.saat} + \mu \Delta t$$

N_t : Fermentasyonun 48. saatinde gelişen bakteri sayısı

N_0 : Fermentasyonun 0. saatinde var olan bakteri sayısı

μ : spesifik gelişim oranı (s^{-1})

Δt : t-0

3.2.6. Fermentasyon Son Ürünlerinin Analizi

Fermentasyon süresince *Bifidobacterium* türleri tarafından üretilen laktik asit, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarları ayrı ayrı ve toplam KZYA olarak hesaplanmıştır. Fermentasyonun 0., 24., ve 48. saatlerde alınan örneklerde asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit ve laktik asit analizleri refraktif indeks dedektörlü (RID) Shimadzu marka LC-20 AD model yüksek performans likit kromatografi (HPLC, Japonya) cihazı ve Transgenomics ORH-801 kolonu kullanılarak belirlenmiştir. Homojen haldeki sıvı numuneler analiz öncesinde 0,45 μm delik çaplı membran filtreden geçirildikten sonra, numunelerin seyreltme oranı HPLC cihazında karbonhidrat bileşenlerinin en iyi ayrımının ve pik büyüklüğünün elde edildiği düzeye göre belirlenmiştir. Cihazın analitik koşulları; enjeksiyon hacmi 20 μL , akış oranı 0,6 ml/dk, kolon fırın sıcaklığı 65 °C olarak uygulanmıştır. Mobil faz olarak kullanılan jel kolondaki ayırma en uygun olan 0,0025 N H₂SO₄ tercih edilmiştir (Anonim 2012).

Toplam KZYA:

$$T_{KZYA} = A + B + P + L$$

A: Asetik asit

B: Bütirik asit

P: Propiyonik asit

L: Laktik asit

3.2.7. Laktik Asidin Toplam KZYA ‘Ya Oranı

Bifidobacterium ve *Lactobacillus* türleri tarafından salep tozunun fermentasyon sonucu oluşan laktik asit miktarının toplam KZYA miktarına oranı hesaplanırken öncelikle fermentasyonun 0. ve 48. saatinde *Bifidobacterium* türlerinin oluşturdukları laktik asit ve toplam KZYA miktarı belirlenmiştir. Bu oran aşağıda yer alan eşitlikle hesaplanmaktadır:

$$\text{Laktik asidin toplam KZYA'ne oranı} = dL/dT_{KZYA}$$

d:fermentasyonun 0. ve 48. saatlerindeki miktarlar arasındaki farkı ifade etmektedir.

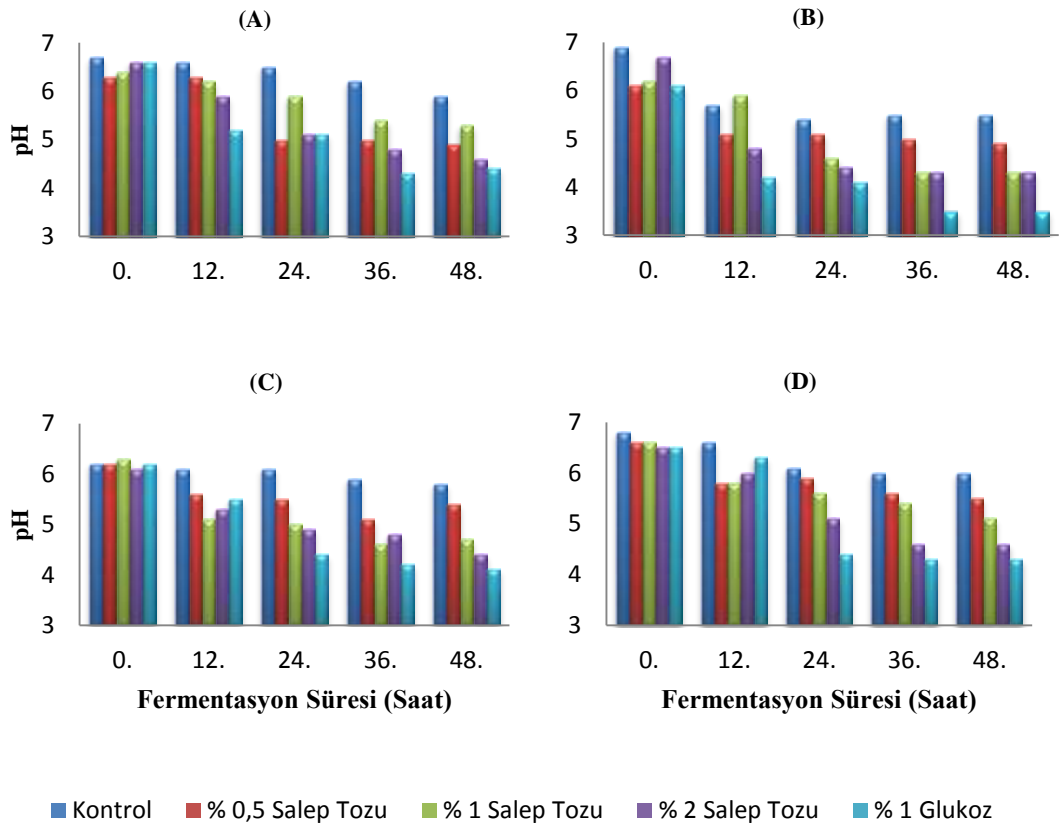
3.2.7.İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme için, Minitab İstatistik Programı kullanılmıştır. Kontrol grubu ile deneysel gruplar arasındaki karşılaştırma “LSD Çoklu Karşılaştırma Testi” kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklarda $p < 0,01$ değeri kullanılmıştır.

4.BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1.pH Değeri

Sindirilemeyen karbonhidratlar olarak adlandırılan prebiyotiklerin *Bifidobacterium* türleri tarafından fermentasyonları sonucu önemli düzeyde laktik, asetik, propiyonik, bütirik asit ve çeşitli yan ürünler üretilmektedir. Oluşan bu asitler bağırsak mikrobiyotasının pH'sını düşürmekte ve ortama *Bifidobacterium* türlerinin de hakim olması ile patojen mikroorganizmaların gelişimi engellenmektedir. Bu nedenle fermentasyon sırasında mikroorganizmanın hızlı asit üreterek pH'yı düşürmesi, probiyotik kültür seçiminde arzu edilen bir özelliktir (Çelikyurt ve Arıcı 2008, Coşkun 2011). Çalışma kapsamında 48 saatlik fermentasyon süresince *Bifidobacterium* türlerinin salep tozu içeren besi ortamındaki pH değerleri Şekil 4.1.1.' de verilmiştir.



Şekil 4.1.1. Fermentasyon süresince *Bifidobacterium* türlerinin salep tozu içeren besi ortamındaki pH değerleri. (A): *B. bifidum* içeren besi ortamındaki pH değerleri, (B): *B. infantis* içeren besi ortamındaki pH değerleri, (C): *B. lactis* içeren besi ortamındaki pH değerleri, (D): *B. longum* içeren besi ortamındaki pH değerleri.

Salep tozu içeren besi ortamlarının pH değerlerine, *Bifidobacterium* türlerinin etkisini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonuçlarına göre; bakteri türü, fermentasyon süreleri ve bakteri türü x fermentasyon süresi arasındaki farklılık $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1.1.).

Çizelge 4.1.1. Salep tozu içeren besi ortamlarının *Bifidobacterium* türlerinin pH değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ortalaması
Bakteri Türü	19	2,6177**
Fermentasyon Süresi	4	16,0291**
Bakteri Türü x Fermentasyon Süresi	76	0,2381**
Hata	100	
Toplam	199	

** $p < 0,01$

Bakteri türleri arası ortalama değerlere uygulanan LSD testi sonuçlarına göre, tüm çeşitlerin istatistiki olarak farklı gruplara dahil olduğu ve bu gruplar içerisinde prebiyotik substrat içermeyen besi ortamındaki *B. bifidum* çeşidinin en yüksek pH değerine, prebiyotik substrat içermeyen besi ortamındaki *B. longum* türünün en yüksek ikinci değere; %1 oranında glukoz içeren besi ortamındaki *B. infantis* çeşidinin ise en düşük pH değerine sahip olduğu, bu değeri %1 ve %2 oranlarında salep tozu içeren besi ortamında gelişme gösteren *B. infantis* türünün takip ettiği saptanmıştır (Çizelge 4.1.2.). Sonuçlar incelendiğinde tüm *Bifidobacterium* türlerinin salep tozu içeren besi ortamında aktivite göstererek asitlik geliştirebildikleri tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen bulgular, *Bifidobacterium* türlerinin salep tozunun bileşiminde bulunan karbonhidratları ve diğer bileşenleri glukoz kadar iyi kullanabildiğini göstermektedir.

Asitliği yüksek bir ortamda ($pH < 4,00-4,50$) patojen mikroorganizmaların inhibisyonu gerçekleşirken aynı zamanda probiyotik mikroorganizmaların gelişmesi olumsuz yönde etkilenmekte, yavaşlamakta ya da durmaktadır. pH değeri nötre yakın bir ortamda ise ($6,50 < pH < 7,02$) ise probiyotiklerin yanında diğer mikroorganizmalarında gelişimi hızlanırken ortamda probiyotik mikroorganizmaların baskın hale gelememe ihtimali söz konusu olmaktadır (Özden 2013). Bu açıdan incelendiğinde elde edilen pH değerleri, *Bifidobacterium* türlerinin gelişimini olumsuz yönde etkilemeyecek değerler arasında yer almaktadır.

Çizelge 4.1.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin pH değerlerine etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Bakteri Türü	Substrat Konsantrasyonu (%)	N	Ortalama Değerler
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Kontrol	10	6,38 ^a
	% 1 Glukoz	10	5,28 ⁱ
	%0,5 Salep Tozu	10	5,52 ^g
	% 1 Salep Tozu	10	5,85 ^{de}
	%2 Salep Tozu	10	5,39 ^h
<i>Bifidobacterium longum subsp. infantis</i>	Kontrol	10	5,80 ^e
	% 1 Glukoz	10	4,30 ^m
	%0,5 Salep Tozu	10	5,25 ⁱ
	% 1 Salep Tozu	10	5,04 ^k
	%2 Salep Tozu	10	4,90 ^l
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	Kontrol	10	6,04 ^c
	% 1 Glukoz	10	4,88 ^l
	%0,5 Salep Tozu	10	5,55 ^g
	% 1 Salep Tozu	10	5,15 ^j
	%2 Salep Tozu	10	5,10 ^{jk}
<i>Bifidobacterium longum subsp. longum</i>	Kontrol	10	6,28 ^b
	% 1 Glukoz	10	5,16 ^j
	%0,5 Salep Tozu	10	5,90 ^d
	% 1 Salep Tozu	10	5,71 ^f
	%2 Salep Tozu	10	5,37 ^h

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

Salep tozu içeren besi ortamlarındaki asitlik gelişimine *Bifidobacterium* türlerinin ve fermentasyon süresinin etkisi incelendiğinde; en yüksek ortalama pH değerinin fermentasyon başlangıcında, en düşük ortalama pH değerinin fermentasyonun 48. saatinde saptandığı görülmektedir. Çizelge 4.1.3.'de pH değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları verilmiştir. Fermentasyon süresince ortalama pH değerleri arasında oluşan farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (p<0,01). Bununla birlikte *Bifidobacterium* türlerinin gelişiminin fermentasyonun 36. saatine kadar arttığı, 36. ve 48. saatler arasında gelişimlerinin azaldığı ve daha stabil hale geldiği saptanmıştır.

Çizelge 4.1.3. Fermentasyon süresince salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin pH değerlerine etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Fermentasyon Süresi (Saat)	S.D.	Ortalamalar
0	40	6,43 ^a
12	40	5,69 ^b
24	40	5,20 ^c
36	40	4,97 ^d
48	40	4,91 ^e

*Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0,01)

Kaplan ve Hutkins (2000), *Bifidobacterium* türleri tarafından FOS'lerin fermentasyonu sonucu pH değerlerinin 4,60-4,40 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Bu pH değerleri, *B. infantis* ve *B. longum*'un salep tozu içeren besi ortamında asit oluşturmaları sonucu elde edilen pH değerleri ile karşılaştırıldığında, %2 oranında salep tozu içeren besi ortamında *B. infantis* için benzer sonuçlar elde edilirken; *B. longum* için daha yüksek bir pH değeri elde edilmiştir.

Tzortzis ve ark. (2005) tarafından *B. bifidum* NCIMB 41171 kullanılarak prebiyotik GOS sentezinin araştırıldığı çalışmada, 48 saatlik fermentasyon sonucu pH değerlerinin 5,20-6,70 arasında değiştiği belirlenmiştir. *B. bifidum* türünün salep tozu içeren besi ortamlarında ölçülen pH değeri sınırlarının 6,39-5,28 arasında değiştiği, çalışmada da pH değerlerinin GOS ile benzer aralıklarda elde edildiği tespit edilmiştir.

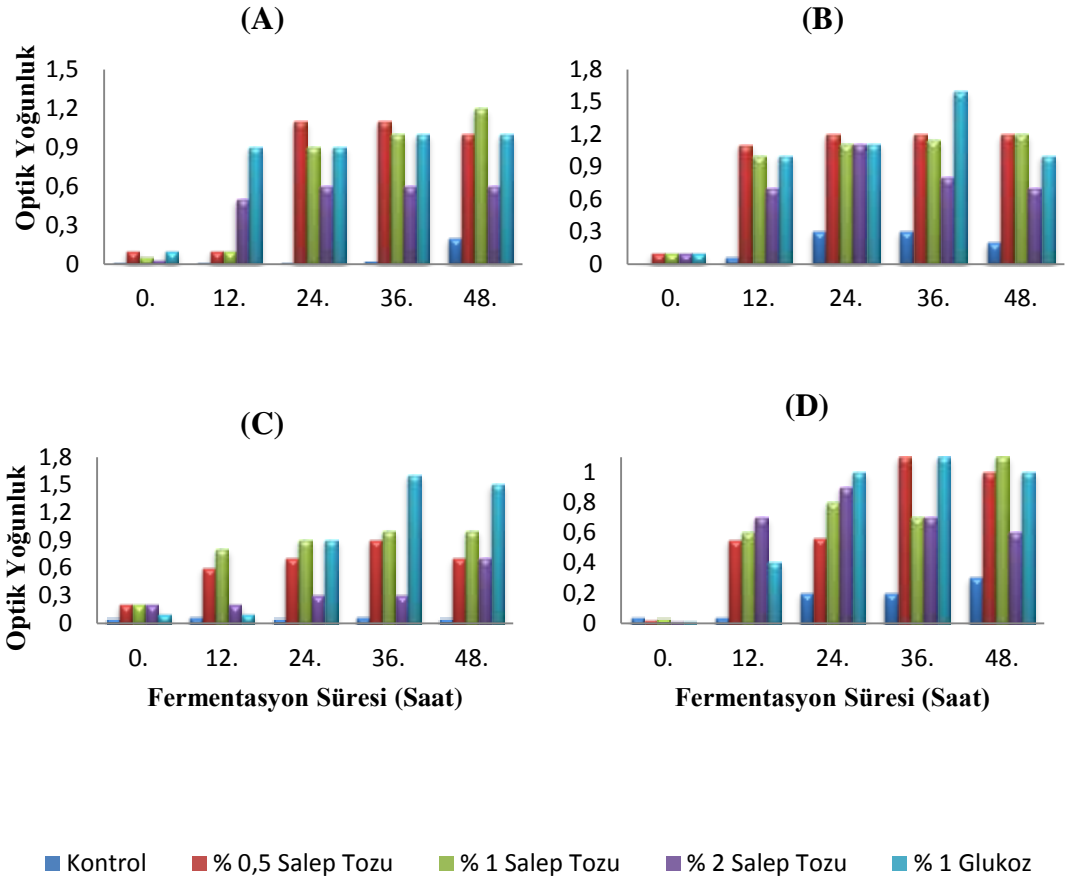
Mumcu ve Temiz (2014) tarafından yapılan bir araştırmada, en yüksek asitleştirme aktivitesi *B. bifidum* ATCC 15969 için 4,20-5,60 arasında değişirken, *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 için %2 oranında SOS içeren besi ortamında tespit edilmiştir. *B. bifidum* için salep tozu içeren besi ortamlarında ölçülen pH değerlerinin GOS ve SOS içeren besi ortamlarında ölçülen pH değerleri ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Araştırmacılar tarafından sonuçlarda belirtilen pH değerleri ile çalışmadan elde edilen veriler karşılaştırıldığında; *Bifidobacterium* türlerinin salep tozunu GOS ve FOS'ler kadar iyi fermente ederek asit oluşturabildikleri saptanmıştır.

4.2.Hücre Yoğunluğu (OD)

İndirek sayım yöntemleri arasında yer alan standarda dayalı sayım yöntemlerinde; mikroorganizmalar genellikle logaritmik gelişme dönemleri içerisinde kullanılmaktadır. Gelişme kurvesinin logaritmik fazında yer alan mikroorganizmalar hızlı bir şekilde çoğalmakta ve ölü hücre sayısının çoğalan hücre sayısına oranla daha düşük olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla bu dönem içerisinde elde edilen absorbans değerleri canlı hücre sayısını oldukça doğru bir şekilde yansıtmaktadır. Optik yoğunluğun fotometrik olarak ölçümü, homojen süspansiyonlarda mümkündür ve bu amaçla turbidimetrik veya refraktometrik yöntemler kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan spektrofotometrelerde, monokromatik bir ışığın bir hücre süspansiyonundan geçerken uğradığı yoğunluk kaybı ölçülmektedir (Gürgün ve Halkman 1990). Salep tozu içeren besi ortamında *Bifidobacterium* türlerinin hücre yoğunluğu fermentasyonun 0., 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde 600 nm 'de spektrofotometrik olarak ölçülmüş olup değerler Şekil 4.2.1.'de verilmiştir. Salep tozu içeren besi ortamlarında hücre yoğunluğu değerlerine *Bifidobacterium* türlerinin etkisini belirlemek için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre, bakteri türü, fermentasyon süreleri ve bakteri türü x fermentasyon süresi arasındaki farklılık $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2.1.).

Bifidobacterium türleri arasındaki ortalama değerlere uygulanan LSD testi sonuçlarına göre, tüm çeşitlerin istatistiki olarak farklı gruplara dahil olduğu ve bu gruplar içerisinde %0,5-1 oranlarında salep tozu içeren besi ortamında *B. infantis* ve %1 glukoz içeren besi ortamında *B. infantis*'in en yüksek hücre yoğunluğu değerine sahip olduğu, bunu %1 glukoz içeren *B. lactis* türünün takip ettiği; tüm mikroorganizmaların kontrol gruplarının da en düşük hücre yoğunluğu değerine sahip olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2.2.). Sonuçlar incelendiğinde %0,5-1 oranlarında salep tozu içeren besi ortamında *B. infantis* pozitif kontrolle aynı grupta yer alan hücre yoğunluğu değerine sahip olduğu saptanmıştır. Bu değer, *B. infantis*'in salep tozunda glukozda olduğu kadar iyi gelişebildiğini göstermektedir.



Şekil 4.2.1. Fermentasyon süresince *Bifidobacterium* türlerinin salep tozu içeren besi ortamındaki hücre yoğunluğu değerleri. (A): *B. bifidum* içeren besi ortamındaki hücre yoğunluğu değerleri, (B): *B. infantis* içeren besi ortamındaki hücre yoğunluğu değerleri, (C): *B. lactis* içeren besi ortamındaki hücre yoğunluğu değerleri, (D): *B. longum* içeren besi ortamındaki hücre yoğunluğu değerleri.

Çizelge 4.2.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin hücre yoğunluğu değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ortalaması
Bakteri Türü	19	0,80619**
Fermentasyon Süresi	4	4,07717**
Bakteri Türü x Fermentasyon Süresi	76	0,11424**
Hata	100	
Toplam	199	

**p<0,01

LSD testi sonuçları karşılaştırıldığında araştırmada kullanılan tüm mikroorganizmaların kontrol gruplarının hücre yoğunluğu değerlerinin en düşük olarak tespit edilmesi ve sıvı besi ortamına belirli oranlarda salep tozu ilavesi ile hücre yoğunluğu değerlerinin orantılı olarak artmış olması; sıvı besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin iyi gelişebildiklerini göstermektedir.

Çizelge 4.2.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin hücre yoğunluğu değerlerine etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Bakteri Türü	Substrat Konsantrasyonu (%)	N	Ortalama Değerler
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Kontrol	10	0,16 ¹
	% 1 Glukoz	10	0,79 ^{cd}
	%0,5 Salep Tozu	10	0,68 ^{de}
	% 1 Salep Tozu	10	0,65 ^{ef}
	%2 Salep Tozu	10	0,47 ^g
<i>Bifidobacterium longum subsp. infantis</i>	Kontrol	10	0,16 ¹
	% 1 Glukoz	10	1,00 ^a
	%0,5 Salep Tozu	10	0,95 ^a
	% 1 Salep Tozu	10	0,92 ^{ab}
	% 2 Salep Tozu	10	0,67 ^e
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	Kontrol	10	0,08 ¹
	% 1 Glukoz	10	0,85 ^{bc}
	%0,5 Salep Tozu	10	0,65 ^{ef}
	% 1 Salep Tozu	10	0,78 ^{cd}
	% 2 Salep Tozu	10	0,33 ^h
<i>Bifidobacterium longum subsp. longum</i>	Kontrol	10	0,14 ¹
	% 1 Glukoz	10	0,69 ^{de}
	%0,5 Salep Tozu	10	0,62 ^{ef}
	% 1 Salep Tozu	10	0,65 ^{ef}
	% 2 Salep Tozu	10	0,55 ^{fg}

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

Salep tozu içeren besi ortamlarındaki hücre yoğunluğuna *Bifidobacterium* türlerinin ve fermentasyon süresinin etkisi incelendiğinde; fermentasyon süresince örneklerin hücre yoğunluğu değerinin pH düşüşü ile ters orantılı olarak arttığı, en yüksek ortalama hücre yoğunluğu değerinin fermentasyonun 36. saatinde; en düşük ortalama hücre yoğunluğu değerinin fermentasyonun 0. saatinde saptandığı görülmektedir. Çizelge 4.2.3.'te fermentasyon süresince hücre yoğunluğu değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları verilmiş

olup ortalama hücre yoğunluğu değerleri arasında oluşan farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Çizelge 4.2.3. Fermentasyon süresince salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin hücre yoğunluğu değerlerine etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Fermentasyon Süresi (Saat)	S.D.	Ortalamalar
0	40	0,08 ^d
12	40	0,47 ^c
24	40	0,74 ^b
36	40	0,85 ^a
48	40	0,80 ^{ab}

*Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

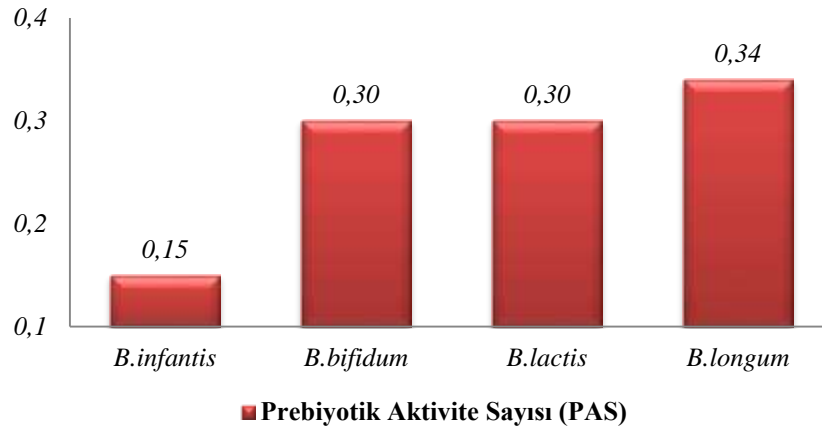
Araştırmada saptanan hücre yoğunluk değerleri; prebiyotik substrat olarak kitosan oligosakkaritleri ve FOS kullanan Lee ve ark. (2002), alternasükrazdan elde edilen oligosakkaritleri (matitol, maltoz, melibioz, rafinoz) kullanan Holt ve ark. (2005), *L. reuteri* 'den elde edilen TOS, GOS, vivinal GOS karışımlarını kullanan Maischberger ve ark. (2009), *Pleurotus ostreatus* ile *P. eryngii* mantar türlerinden elde edilen glukanolari kullanan Synytsya ve ark. (2009), *Anoectochilus formasanus* (*Orchidaceae*)'un sulu ekstraktlarından elde edilen sindirilemeyen polisakkaritler ve inülini kullanan Yang ve ark. (2012) tarafından saptanan sonuçlar ile benzer, FOS kullanan Kaplan ve Hutkins (2000), FOS, SOS, inülin, arabinogalaktan, β -glukan, D(+) rafinoz, pentahidrat kullanan Su ve ark. (2007), FOS, GOS, KOS, İMO, inülin ve stakiyoz kullanan He ve ark. (2011)'nın bulgularından daha düşük ve raftiloz ile inülin kullanan Kneifel ve ark. (2000) ve arabinoz, ksiloz, KOS, FOS, arabinoksilan kullanan Crittenden ve ark. (2002)'in elde ettiği sonuçlardan daha yüksek saptanmıştır. Oluşan bu farklılıkların, kullanılan probiyotik mikroorganizma türü, suşu ve oranı; farklı prebiyotik kaynakları ve oranları; kullanılan besi ortamlarının farklılığı, spektrofotometrik okumalarda kullanılan farklı dalga boyu ($OD_{600\text{ nm}}$, $OD_{625\text{ nm}}$) gibi nedenlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.3.Prebiyotik Aktivite Sayısı (PAS)

Prebiyotik aktivite sayısı (PAS), bir mikroorganizmanın gelişimini destekleyen substratın diğer mikroorganizmaların gelişimi üzerine etkisi ile glukoz gibi prebiyotik olmayan substratlar üzerinde mikroorganizma gelişiminin logaritmik konsantrasyonunun karşılaştırılmasıdır. PAS, fermentasyonun 0. ve 24. saatlerinde alınan örneklerin 600 nm’de ölçülen absorbans değerleri kullanılarak formüle göre hesaplanmıştır.

$$PAS = \frac{\frac{[(\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{24} \text{ Prebiyotik log OD}) - (\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_0 \text{ Prebiyotik log OD})]}{(\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_{24} \text{ Glukoz log OD}) - (\text{Probiyotik hücre yoğunluğu}_0 \text{ Glukoz log OD})}}{\frac{[(\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{24} \text{ Prebiyotik log OD}) - (\text{Enterik hücre yoğunluğu}_0 \text{ Prebiyotik log OD})]}{(\text{Enterik hücre yoğunluğu}_{24} \text{ Glukoz log OD}) - (\text{Enterik hücre yoğunluğu}_0 \text{ Glukoz log OD})}}$$

Formül incelendiğinde bir substrat, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri gibi probiyotik türler tarafından glukoz kadar iyi metabolize edilerek ortamdaki probiyotik mikroorganizma sayısını arttırırsa pozitif, *Enterococcus* türleri gibi patojenik mikroorganizma sayısında artış olursa negatif prebiyotik aktiviteden söz edilmektedir (Huebner ve ark. 2007, Maischberger ve ark. 2009).



Şekil 4.3.1. *Bifidobacterium* türleri için prebiyotik aktivite sayısı (PAS)

Salep tozu içeren besiyerlerindeki *Bifidobacterium* türlerinin PAS değerlerine etkisini belirlemek için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre, mikroorganizma türleri arasındaki farklılık $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3.1.).

Çizege 4.3.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin PAS değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ortalaması
Bakteri Türü	3	0,014050**
Hata	4	0,002750**
Toplam	7	

** $p<0,01$

Bakteri türleri arasındaki ortalama değerlere uygulanan LSD testi sonuçlarına göre; *B. bifidum*, *B. infantis* ve *B. lactis* türlerinin istatistiki olarak aynı gruba dahil olduğu; *B. longum*'un ise farklı grupta yer aldığı ve en düşük PAS sahip olduğu saptanmıştır ($p<0,01$)(Çizelge 4.3.2.).

Çizelge 4.3.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin PAS değerlerine etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Bakteri Türü	N	Ortalama Değerler
<i>B. bifidum</i>	2	0,30 ^a
<i>B. infantis</i>	2	0,34 ^a
<i>B. lactis</i>	2	0,30 ^a
<i>B. longum</i>	2	0,15 ^b

*Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

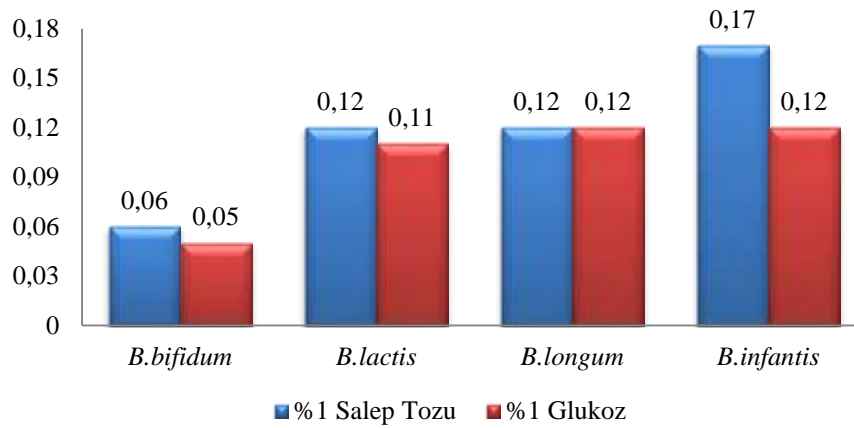
Huebner ve ark. (2008) ticari prebiyotiklerin (FOS ve inülin) prebiyotik aktivitesi üzerine işleme şartlarının etkisini araştırdıkları çalışmada PAS'nın 0,19-0,49 arasında değiştiğini saptamışlardır. Haryadi ve ark. (2013) dirençli nişasta ilaveli besiyeri ortamında, PAS'nı *B. longum* için 3,60; *L. plantarum* için 3,58 ve *L. acidophilus* için ise 0,04 olarak saptamışlardır. Thuaytong ve Anprung. (2011) PAS'nı *L. acidophilus* LA-5 ve *B. lactis* BB-12 türleri için sırasıyla beyaz guava içeren besi ortamında 0,12 ve 0,28; kırmızı guava içeren besi ortamında ise 0,13 ve 0,29 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada saptanan PAS, genel itibari ile söz konusu çalışmalarla benzer bulunmuştur.

Çalışmadan elde edilen değerlerin özellikle endüstriyel olarak kullanılan FOS ve inülin gibi ticari prebiyotiklere benzerlik göstermesi, salep tozunun potansiyel prebiyotik olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

4.4. Spesifik Gelişme Oranı (μ)

Bakteri grupları fermentasyon süresince aşamalı olarak gelişme göstermektedirler ve bu gelişim populasyon miktarının zamana karşı logaritmik eğrisi elde edilmesinde kullanılmaktadır (Vulevic ve ark. 2004, Cardarelli ve ark. 2007). Gelişme hızı, fiziksel çevrenin yani ortamdaki mevcut besinlerin kontrolü altındadır. Spesifik gelişme oranı; mikroorganizmaların gelişme eğrisinin birinci türevinden elde edilmektedir ve birim alandaki toplam mikroorganizma sayısına kıyasla mikroorganizma sayısındaki artış olarak tanımlanmaktadır. Spesifik gelişme oranı %1 oranında salep tozu içeren besi ortamlarında fermentasyonun 0. ve 24. saatlerindeki probiyotik bakteri sayısı tespit edilerek ve fermentasyon süreleri baz alınarak hesaplanmıştır.

Bifidobacterium türleri için salep tozu içeren besi ortamlarında spesifik gelişme oranı değerleri Şekil 4.4.1’de verilmiştir. Şekilden görüleceği gibi *B. infantis*’in salep içeren besi ortamında pozitif kontrol olan glukoza göre daha yüksek oranda spesifik gelişme oranına sahip olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.4.1. *Bifidobacterium* türleri için spesifik gelişme oranları

Salep tozu içeren besi ortamındaki *Bifidobacterium* türlerinin spesifik gelişme oranı (μ) değerlerine etkisini belirlemek için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre; bakteri türleri arasındaki farklılık $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.4.1.).

Çizelge 4.4.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin spesifik gelişme oranı değerleri etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ortalaması
Bakteri Türü	3	0,0042053**
Hata	4	0,0004580**
Toplam	7	

** $p<0,01$

Bakteri türleri arasındaki ortalama değerlere uygulanan LSD testi sonuçlarına göre, *B. longum* ve *B. lactis* türlerinin istatistiki olarak aynı gruba dahil olduğu; *B. bifidum* ve *B. infantis* çeşitlerinin ise farklı gruplarda yer aldığı ve en yüksek spesifik gelişme oranına *B. infantis*'in; en düşük spesifik gelişme oranına ise *B. bifidum*'un sahip olduğu saptanmıştır ($p<0,01$) (Çizelge 4.4.2.).

Çizelge 4.4.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin spesifik gelişme oranı değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Bakteri Türü	N	Ortalama Değerler
<i>B. bifidum</i>	2	0,06 ^b
<i>B. infantis</i>	2	0,17 ^a
<i>B. lactis</i>	2	0,12 ^{ab}
<i>B. longum</i>	2	0,12 ^{ab}

*Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

Araştırmada saptanan spesifik gelişme oranı, prebiyotik substrat olarak ksiloz, arabinoz, KOS, FOS, arabinoksilan kullanan Crittenden ve ark. (2002), sükröz, guar gam, kısmen hidrolize edilmiş guar gam, İMO, SOS, FOS, TOS ve bunların kombinasyonlarını kullanan Vulevic ve ark. (2004), alternan sükröz oligosakkaritlerini (maltitol, maltoz, melbioz, rafinoz) kullanan Holt ve ark. (2005), malt bazlı içecek kullanan Sanchez ve ark. (2008), *Pleurotus ostreatus* ile *P. eryngii* mantar türlerinden elde edilen glukanları kullanan Synytsya ve ark. (2009)'un sonuçları ile benzer bulunurken, laktoz ile ticari

oligosakkaritleri kullanan Tzortzis ve ark. (2005), *L. reuteri*'den elde edilen TOS, GOS, vivinal GOS karışımlarını kullanan Maischberger ve ark. (2009), *Anoectochilus formasanus (Orchidaceae)*'un sulu ekstraktlarından elde edilen sindirilemeyen polisakkaritler ve inülini kullanan Yang ve ark. (2012), bergamot kabuğu oligosakkaritleri ile FOS kullanan Mandalari ve ark. (2006)'nin saptadığı değerlerden daha düşük bulunmuştur.

Çalışmada elde edilen bulgular, *Bifidobacterium* türlerinin gelişmesinin salep tozunun bileşimindeki karbonhidratlar tarafından oligosakkaritler kadar iyi bir şekilde desteklendiğini göstermektedir. Araştırmalarda spesifik gelişme oranına ilişkin farklı sonuçlara rastlanması, farklı bakteri türü ve suşlarının kullanılmasından, inokülasyon oranı ve fermentasyon koşullarından kaynaklanabileceği gibi, farklı prebiyotik substratların ve besiyerlerinin kullanılması da sonuçlar üzerinde etkili olmaktadır.

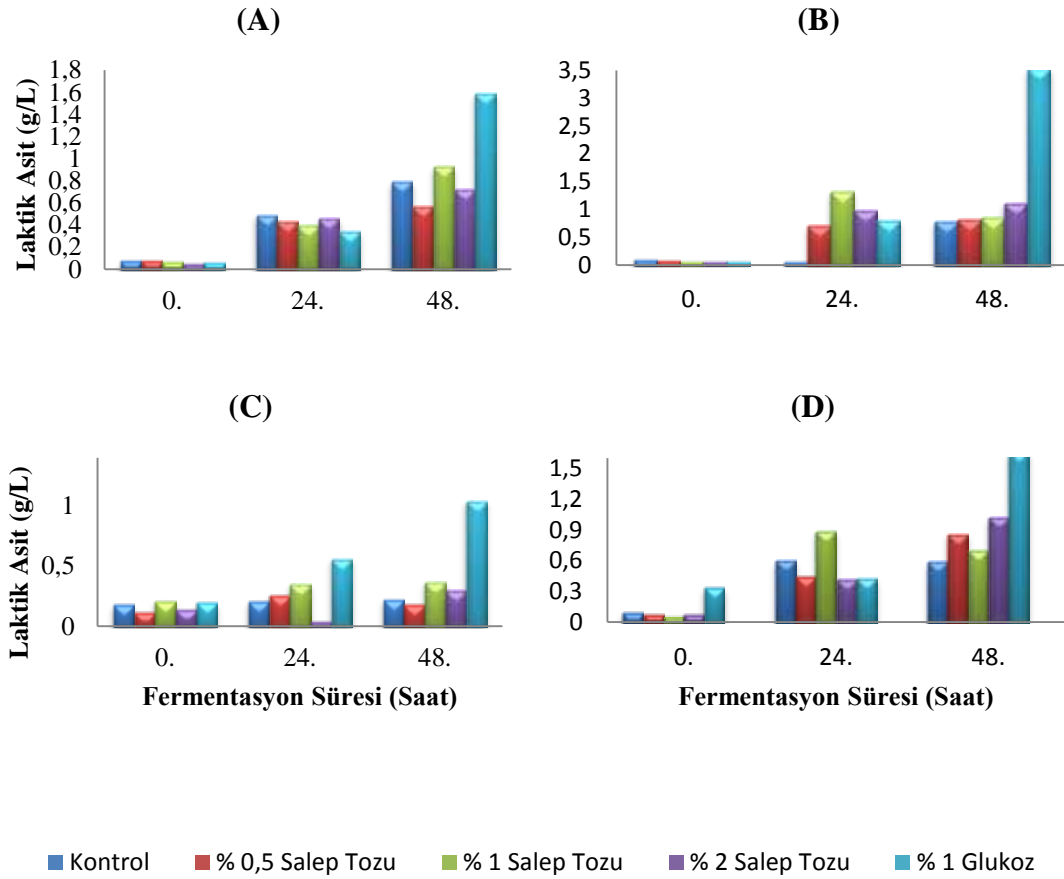
4.5.Kısa Zincirli Yağ Asitleri (KZYA)

Bifidobacterium ve *Lactobacillus* türlerinin etkisiyle gerçekleşen prebiyotik fermentasyonun son ürünleri laktik asit ve kısa zincirli yağ asitleridir. KZYA profili oligosakkarit yapısına ve probiyotik bakteri türüne bağlı olup değişen miktarlarda asetik, propiyonik ve bütirik asidi içermektedir. Belirli bir zamanda mikrobiyota tarafından üretilen laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarları hesaplanarak farklı substratların toplam KZYA miktarına etkisinin karşılaştırılması ile prebiyotik substratın kullanılabilirliği belirlenebilmektedir (Palframan ve ark. 2003, Vulevic ve ark. 2004, Cardarelli ve ark. 2007).

4.5.1.Laktik Asit

Carl Wilhelm Scheele (1780) tarafından keşfedilmiş olan laktik asit, ticari olarak 1881 yılında ekşimiş süttten elde edilmiş olması nedeniyle süt asidi olarak adlandırılarak *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri tarafından prebiyotik karbonhidrat bileşenlerinin fermentasyonu sonucu ürettikleri bir organik asittir. Laktik asit oluşumu, homofermentatif laktik asit bakterileri tarafından; karbonhidratların heksoz difosfat yolu kullanılarak pirüvik aside parçalanması ile başlamakta pirüvik asitten laktik asit

oluşmakta ya da *Bifidobacterium* türleri gibi heterofermentatif bakteriler tarafından glukozdan laktik asit ile birlikte diğer asit ve alkollerin üretimi ile gerçekleşmektedir (Berg ve ark. 2002, McSweeney ve ark. 2004, Maischberger ve ark. 2009). Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin fermentasyon süresince ürettikleri laktik asit miktarları (g/L) 0., 24. ve 48. saatlerde ölçülmüş olup Şekil 4.5.1.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.5.1.1. *Bifidobacterium* türlerinin fermentasyon süresince ürettikleri laktik asit miktarları (g/L). (A): *B. bifidum* içeren besi ortamındaki laktik asit miktarı, (B): *B. infantis* içeren besi ortamındaki laktik asit miktarı, (C): *B. lactis* içeren besi ortamındaki laktik asit miktarı, (D): *B. longum* içeren besi ortamındaki laktik asit miktarı.

Salep tozu içeren besi ortamlarındaki *Bifidobacterium* türlerinin laktik asit değerlerine etkisini belirlemek için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre; bakteri türü,

fermentasyon süreleri ve bakteri türü x fermentasyon süresi arasındaki farklılık $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5.1.1.).

Çizelge 4.5.1.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin laktik asit miktarları etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ortalaması
Bakteri türü	19	480866**
Fermentasyon Süresi	2	6859842**
Bakteri Türü x Fermentasyon Süresi	38	374562**
Hata	60	
Toplam	119	

** $p<0,01$

Bakteri türleri arasındaki ortalama değerlere uygulanan LSD testi sonuçlarına göre, tüm çeşitlerin istatistiki olarak farklı gruplara dahil olduğu ve bu gruplar içerisinde laktik asit için en yüksek değere %1 glukoz içeren besi ortamındaki *B. infantis*'in sahip olduğu, bu değeri %1 glukoz içeren besi ortamındaki *B. longum* ve %1 salep tozu içeren besi ortamındaki *B. infantis*'in takip ettiği ve en düşük değere ise %2 salep tozu içeren *B. lactis*'in sahip olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5.1.2.).

Prebiyotik fermentasyonu süresince laktik asit miktarı üzerine; kullanılan probiyotik mikroorganizmanın türü ve suşu, fermentasyon koşulları, besi ortamındaki substratların kullanılabilirliği gibi birçok etmen etkili olduğundan, farklı araştırmalarda değişik laktik asit değerlerine rastlanmaktadır. Çalışmada fermentasyon süresindeki ortalama laktik asit içerikleri ile ilgili değerler, prebiyotik substrat olarak sükroz, guar gam, kısmen hirolize edilmiş guar gam, İMO, SOS, FOS, TOS ve kombinasyonlarını kullanan Vulevic ve ark. (2004) ile benzer bulunurken malt bazlı içecek kullanan Sanchez ve ark. (2008)'nın bulgularından düşük çıkmıştır.

Çizelge 4.5.1.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin laktik asit miktarları etkisine ilişkin LSD testi sonuçları (g/L)

Bakteri Türü	Substrat Konsantrasyonu (%)	N	Ortalama Değerler
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Kontrol	6	0,460 ^k
	%1 Glukoz	6	0,660 ^e
	%0,5 Salep Tozu	6	0,360 ⁿ
	%1 Salep Tozu	6	0,470 ^j
	%2 Salep Tozu	6	0,410 ^m
<i>Bifidobacterium longum subsp. infantis</i>	Kontrol	6	0,510 ^l
	%1 Glukoz	6	1,470 ^a
	%0,5 Salep Tozu	6	0,540 ^h
	%1 Salep Tozu	6	0,750 ^c
	%2 Salep Tozu	6	0,720 ^d
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	Kontrol	6	0,200 ^p
	%1 Glukoz	6	0,600 ^t
	%0,5 Salep Tozu	6	0,190 ^k
	%1 Salep Tozu	6	0,310 ^o
	%2 Salep Tozu	6	0,160 ^r
<i>Bifidobacterium longum subsp. longum</i>	Kontrol	6	0,430 ^l
	%1 Glukoz	6	0,780 ^b
	%0,5 Salep Tozu	6	0,470 ^j
	%1 Salep Tozu	6	0,550 ^g
	%2 Salep Tozu	6	0,510 ^l

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

Fermentasyon süresi uzadıkça, oluşan laktik asit değerinin de arttığı saptanmıştır. Fermentasyonun başlangıcında laktik asit değeri 0,110 g/L iken, 48. saat sonunda bu oran ortalama 0,940 g/L olarak saptanmıştır. Varyans analizi sonuçlarına göre örneklerin fermentasyon süreleri arasında farklılıklar önemli bulunmuştur (p<0,01) (Çizelge 4.5.1.3.).

Çizelge 4.5.1.3. Fermentasyon süresince salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin laktik asit miktarları etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

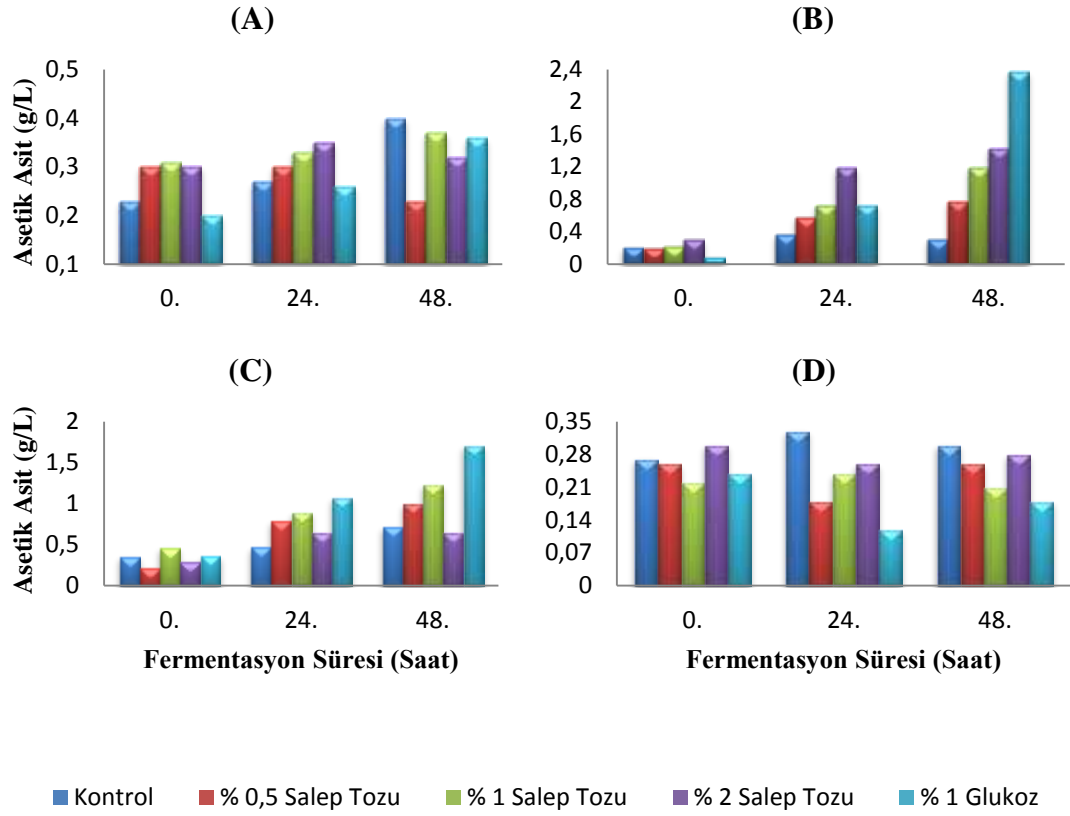
Fermentasyon Süresi (Saat)	S.D.	Ortalamalar
0	40	0,110 ^c
24	40	0,540 ^b
48	40	0,940 ^a

*Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0,01)

4.5.2.Asetik asit

Homofermentatif *Lactobacillus* türlerinin en önemli fermentasyon sonu ürünleri laktik asit olmasının yanında önemli miktarda asetik asit ve diğer kısa zincirli yağ asitleri bunlar arasında yer almaktadır (Metin 2001). Heterofermentatif *Bifidobacterium* türleri ise fermentasyon süresince glukozdan 3:2 oranında laktik asit ve asetik asit oluşturmaktadır. Asetik asidin kuvvetli bir asit olması nedeniyle bağırsak pH'sını düşürürerek bağırsak bütünlüğünün korunması ve bağırsak ile ilgili immun sistemin düzenlenmesi gibi işlevleri bulunmaktadır (Akalın 2002).

Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin fermentasyon sürecinde ürettikleri asetik asit miktarları (g/L) fermentasyonun 0., 24. ve 48. saatlerinde analiz edilmiş ve elde edilen değerler Şekil 4.5.2.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.5.2.1. *Bifidobacterium* türlerinin fermentasyon süresince ürettikleri asetik asit miktarları (g/L). (A): *B. bifidum* içeren besi ortamındaki asetik asit miktarı, (B): *B. infantis* içeren besi ortamındaki asetik asit miktarı, (C): *B. lactis* içeren besi ortamındaki asetik asit miktarı, (D): *B. longum* içeren besi ortamındaki asetik asit miktarı.

Salep tozu içeren besi ortamındaki *Bifidobacterium* türlerinin asetik asit değerlerine etkisini belirlemek için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre, bakteri türü, fermentasyon süreleri ve bakteri türü x fermentasyon süresi arasındaki farklılık $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5.2.1.).

Çizelge 4.5.2.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin asetik asit değerleri etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ortalaması
Bakteri Türü	19	602002**
Fermentasyon Süresi	2	2305886**
Bakteri Türü x Fermentasyon Süresi	38	281630**
Hata	60	
Toplam	119	

** $p < 0,01$

Bakteri türleri arasındaki ortalama değerlere uygulanan LSD testi sonuçlarına göre, tüm çeşitlerin istatistiki olarak farklı gruplara dahil olduğu ve bu gruplar içerisinde asetik asit için en yüksek değerlere %1 oranında glukoz içeren besi ortamındaki *B. infantis* ve *B. lactis* ile %2 oranında salep tozu içeren besi ortamındaki *B. infantis*, %1 salep tozu içeren besi ortamındaki *B. lactis* 'in, en düşük değere ise %1 oranında glukoz içeren besi ortamındaki *B. longum*'un sahip olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5.2.2.).

Çizelge 4.5.2.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin asetik asit değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları (g/L)

Bakteri Türü	Substrat Konsantrasyonu (%)	N	Ortalama Değerler
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Kontrol	6	0,300 ^{jk}
	% 1 Glukoz	6	0,270 ^m
	%0,5 Salep Tozu	6	0,280 ^{lm}
	% 1 Salep Tozu	6	0,340 ^h
	% 2 Salep Tozu	6	0,320 ^{hi}
<i>Bifidobacterium longum subsp. infantis</i>	Kontrol	6	0,300 ^{jk^l}
	% 1 Glukoz	6	1,270 ^a
	%0,5 Salep Tozu	6	0,520 ^g
	% 1 Salep Tozu	6	0,710 ^e
	% 2 Salep Tozu	6	0,970 ^c
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	Kontrol	6	0,520 ^g
	% 1 Glukoz	6	1,050 ^b
	%0,5 Salep Tozu	6	0,670 ^f
	% 1 Salep Tozu	6	0,870 ^d
	% 2 Salep Tozu	6	0,530 ^g
<i>Bifidobacterium longum subsp. longum</i>	Kontrol	6	0,300 ^{lj}
	% 1 Glukoz	6	0,180 ^o
	%0,5 Salep Tozu	6	0,240 ⁿ
	% 1 Salep Tozu	6	0,220 ⁿ
	% 2 Salep Tozu	6	0,270 ^{klm}

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

Bifidobacterium türlerinin asetik asit değerleri üzerine fermentasyon süresinin etkisi incelendiğinde; fermentasyon süresince örneklerin asetik asit değerlerinin arttığı, en yüksek ortalama değer 48. saatte saptandığı görülmektedir. Çalışma ile benzer şekilde, prebiyotik substrat olarak malt bazlı içecek kullanan Sanchez ve ark. (2008) ve gentio-oligosakkaritler, FOS ile maltodekstrin kullanan Rycroft ve ark. (2001a) de prebiyotik

fermentasyon süresince asetik asit miktarının kademeli olarak arttığını belirtmişlerdir. Fermentasyon süresince ortalama asetik asit değerleri arasında oluşan farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,01$) (Çizelge 4.5.2.3.).

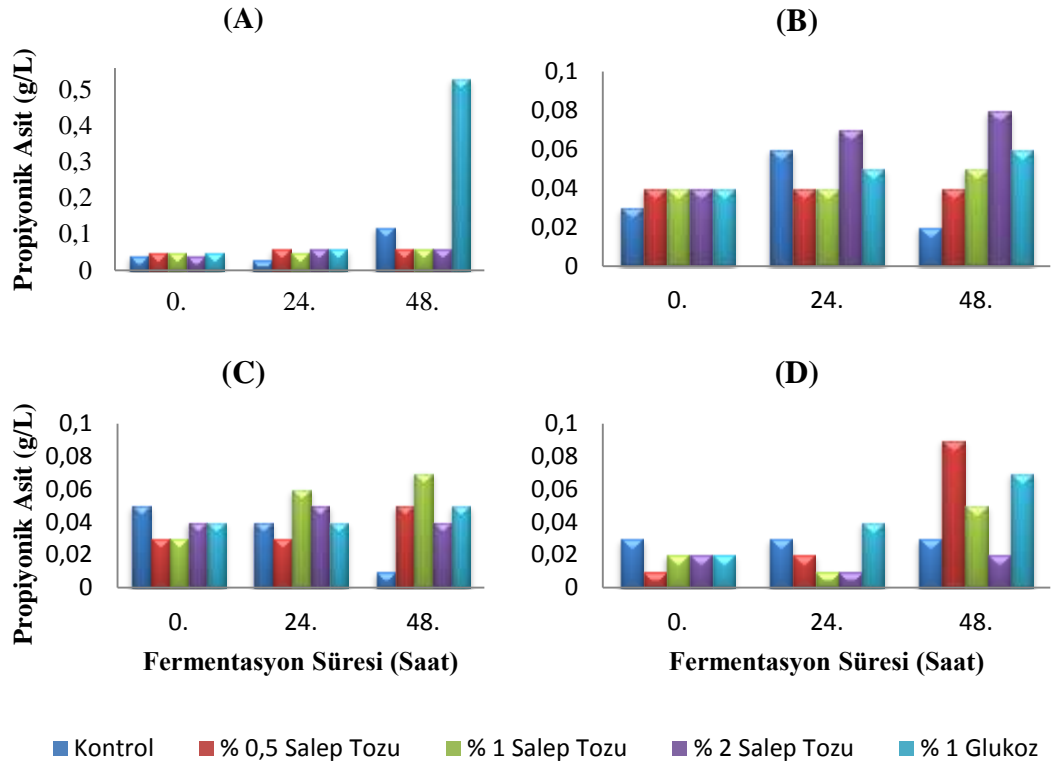
Çizelge 4.5.2.3. Fermentasyon süresince salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin asetik asit değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Fermentasyon Süresi (Saat)	S.D.	Ortalamalar
0	40	0,270 ^c
24	40	0,510 ^b
48	40	0,750 ^a

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

4.5.3. Propiyonik asit

İlk kez 1844 yılında Johann Gottlieb tarafından şekerlerin indirgenme ürünü olarak tanımlanan propiyonik asidin kimyasal yapısı CH_3CH_2COOH şeklindedir. Propiyonik asit, prebiyotiklerin kolonda mikrobiyota bakterilerinin enzimleriyle hidrolize edilmesi sonucu fermentasyon son ürünü olarak oluşmaktadır. Bağırsak epitel hücrelerinin enerji kaynağı olan kısa zincirli yağ asitlerinden olup propiyonik asit, hepatik yağ asidi sentezini inhibe ederek serum LDL düzeyini düşürmektedir (Macfabe ve ark. 2007, Nguyen ve ark. 2007, Den Besten ve ark. 2013). Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin fermentasyon sürecinde ürettikleri propiyonik asit miktarları (g/L) fermentasyonun 0., 24. ve 48. saatlerinde analiz edilmiş ve elde edilen değerler Şekil 4.5.3.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.5.3.1. *Bifidobacterium* türlerinin fermentasyon süresince ürettikleri propiyonik asit miktarları (g/L). (A): *B. bifidum* içeren besi ortamındaki propiyonik asit miktarı, (B): *B. infantis* içeren besi ortamındaki propiyonik asit miktarı, (C): *B. lactis* içeren besi ortamındaki propiyonik asit miktarı, (D): *B. longum* içeren besi ortamındaki propiyonik asit miktarı

Salep tozu içeren besi ortamındaki *Bifidobacterium* türlerinin propiyonik asit değerlerine etkisini belirlemek için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre; bakteri türü, fermentasyon süreleri ve bakteri türü x fermentasyon süresi arasındaki farklılık $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5.3.1.).

Bakteri türleri arasındaki ortalama değerlere uygulanan LSD testi sonuçlarına göre; tüm çeşitlerin istatistiki olarak farklı gruplara dahil olduğu ve bu gruplar içerisinde propiyonik asit için en yüksek değere %1 oranında glukoz içeren besi ortamındaki *B. bifidum*'un, en düşük değere ise %0,5 oranında salep tozu içeren besi ortamındaki *B. longum*'un sahip olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.5.3.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin propiyonik asit değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ortalaması
Bakteri türü	19	11876**
Fermentasyon Süresi	2	15223**
Bakteri türü x Fermentasyon Süresi	38	9987**
Hata	60	
Toplam	119	

**p<0,01

Çizelge 4.5.3.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin propiyonik asit değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Bakteri Türü	Substrat Konsantrasyonu (%)	N	Ortalama Değerler
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Kontrol	6	0,062 ^d
	%1 Glukoz	6	0,220 ^a
	%0,5 Salep Tozu	6	0,056 ^d
	%1 Salep Tozu	6	0,054 ^e
	%2 Salep Tozu	6	0,051 ^f
<i>Bifidobacterium longum subsp. infantis</i>	Kontrol	6	0,035 ^k
	%1 Glukoz	6	0,049 ^g
	%0,5 Salep Tozu	6	0,038 ^l
	%1 Salep Tozu	6	0,039 ^j
	%2 Salep Tozu	6	0,062 ^c
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	Kontrol	6	0,034 ^k
	%1 Glukoz	6	0,045 ^h
	%0,5 Salep Tozu	6	0,130 ^b
	%1 Salep Tozu	6	0,055 ^e
	%2 Salep Tozu	6	0,045 ^h
<i>Bifidobacterium longum subsp. longum</i>	Kontrol	6	0,030 ^l
	%1 Glukoz	6	0,043 ⁱ
	%0,5 Salep Tozu	6	0,013 ^o
	%1 Salep Tozu	6	0,025 ^m
	%2 Salep Tozu	6	0,015 ⁿ

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

Rycroft ve ark. (2001b) prebiyotik oligosakkaritlerin (Raftiloz P95, Raftilin LS, Laktuloz, KOS, Oligomat 55, SOS) fermentasyon özelliklerini *in vitro* olarak değerlendirdikleri çalışmada, propiyonik asit miktarları arasında farklılık olmadığını saptamışlardır. Vulevic ve ark. (2004) *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin 24

saatlik fermentasyonu sonucu ürettikleri propiyonik asit miktarlarının ortamda sükröz, TOS, FOS ve guar gam varlığında sırasıyla 0,25-1,0 g/L arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Araştırmacıların, farklı probiyotik bakteri türlerini, prebiyotik substratlarını ve fermentasyon koşullarını uygulamaları propiyonik asit miktarlarında da değişkenliğe neden olmuştur.

Fermentasyon süresi uzadıkça propiyonik asit değerlerinin istatistiksel açıdan önemli düzeyde ($p<0,01$) artış gösterdiği, daha önce varyans analizi çizelgesinin incelenmesinde belirtilmişti. Bu önem düzeyinin süreler arasındaki farklılığını belirlemek için yapılan LSD testi incelenecek olursa, fermentasyonun farklı saatlerinde elde edilen değerler arasında farklılıkların olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5.3.3.).

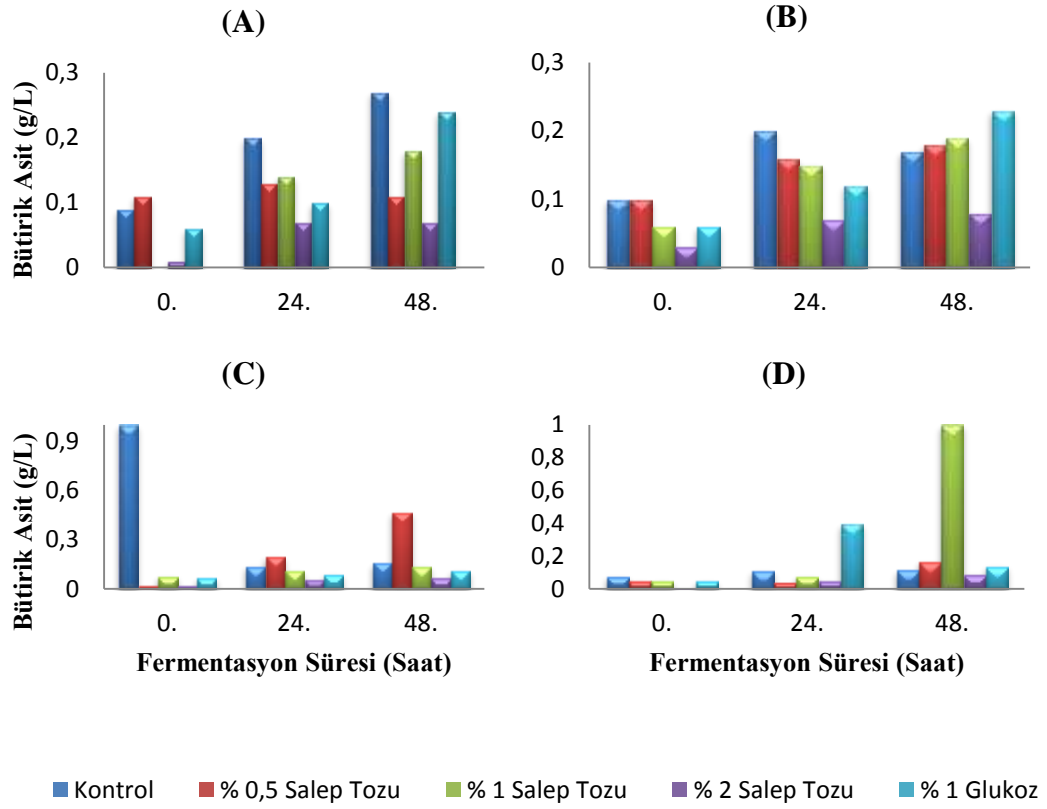
Çizelge 4.5.3.3. Fermentasyon süresince salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin propiyonik asit değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Fermentasyon Süresi (Saat)	S.D.	Ortalamalar
0	40	0,035 ^c
24	40	0,055 ^b
48	40	0,074 ^a

*Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p<0,01$)

4.5.4.Bütirik Asit

Keçi, koyun, manda sütleri ve tereyağı gibi süt ürünlerin bileşiminde yer alan bütirik asit, bağırsaklarda gerçekleşen anaerobik prebiyotik fermentasyonunun bir ürünü olarak da oluşmaktadır. Bağırsak epitel hücrelerinin enerji kaynağı olan bütirik asit, ortakuvvette bir asit olup kolonda epitel hücrelerinin metabolizması, çoğalması ve farklılaşmasına etki ederek Crohn hastalığı, kolorektal kanser gibi birçok bağırsak rahatsızlığının tedavisinde olumlu etkide bulunduğu bildirilmektedir (Smith 1995, Segain ve ark. 2000, Immerseel ve ark. 2005, Wong ve ark. 2006). Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin fermentasyon sürecinde ürettikleri bütirik asit miktarları (g/L) Şekil 4.5.4.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.5.4.1. *Bifidobacterium* türlerinin fermentasyon süresince ürettikleri bütirik asit miktarları (g/L). (A): *B. bifidum* içeren besi ortamındaki bütirik asit miktarı, (B): *B. infantis* içeren besi ortamındaki bütirik asit miktarı, (C): *B. lactis* içeren besi ortamındaki bütirik asit miktarı, (D): *B. longum* içeren besi ortamındaki bütirik asit miktarı

Salep tozu içeren besi ortamındaki *Bifidobacterium* türlerinin bütirik asit değerleri üzerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçlarına göre; bakteri türü, fermentasyon süresi ve bakteri türü x fermentasyon süresi interaksyonunu $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5.4.1.)

Rycroft ve ark. (2001a) Raftiloz P95, Raftilin LS, Laktuloz, KOS, Oligomat 55, SOS'nin fermentasyon özelliklerini *in vitro* olarak değerlendirdikleri çalışmada, FOS ve inülin içeren besi ortamı haricinde diğer substratların bütirik asit üretiminde etkili olmadığını saptamışlardır

Çizelge 4.5.4.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin bütirik asit değerleri etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ortalaması
Bakteri Türü	19	15494**
Fermentasyon Süresi	2	106302**
Bakteri Türü x Fermentasyon Süresi	38	8169**
Hata	60	
Toplam	119	

**p<0,01

Bakteri türleri arasındaki ortalama değerlere uygulanan LSD testi sonuçlarına göre, tüm çeşitlerin istatistiki olarak farklı gruplara dahil olduğu ve bu gruplar içerisinde bütirik asit için en yüksek değere %0,5 oranında salep tozu içeren besi ortamındaki *B. lactis* ve %1 oranında glukoz içeren besi ortamındaki *B. longum*'un; en düşük değere ise %2 oranında salep tozu içeren besi ortamındaki *B. longum*; *B. lactis*, *B. infantis* ve *B. bifidum*'un sahip olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5.4.2.).

Fermentasyon süresi uzadıkça bütirik asit değerlerinin de istatistiksel açıdan önemli düzeyde ($p<0,01$) artış gösterdiği, bu önem düzeyinin süreler arasındaki farklılığını belirlemek için yapılan LSD testi incelenecek olursa, fermentasyonun 24. ve 48. saatinde elde edilen değerlerin aynı grupta yer aldığı saptanmıştır (Çizelge 4.5.4.3.).

Çizelge 4.5.4.3. Fermentasyon süresince salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin bütirik asit değerleri üzerine olan etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Fermentasyon süresi (Saat)	S.D.	Ortalamalar
0	40	0,063 ^b
24	40	0,130 ^a
48	40	0,160 ^a

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

Çizelge 4.5.4.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin bütirik asit değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Bakteri Türü	Substrat Konsantrasyonu (%)	N	Ortalama Değerler
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Kontrol	6	0,190 ^{abc}
	% 1 Glukoz	6	0,140 ^{abcde}
	%0,5 Salep Tozu	6	0,120 ^{bcde}
	% 1 Salep Tozu	6	0,140 ^{abcde}
	% 2 Salep Tozu	6	0,050 ^e
<i>Bifidobacterium longum subsp. infantis</i>	Kontrol	6	0,160 ^{abcd}
	% 1 Glukoz	6	0,140 ^{abcde}
	%0,5 Salep Tozu	6	0,140 ^{abcde}
	% 1 Salep Tozu	6	0,130 ^{abcde}
	% 2 Salep Tozu	6	0,056 ^e
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	Kontrol	6	0,130 ^{abcde}
	% 1 Glukoz	6	0,090 ^{cde}
	%0,5 Salep Tozu	6	0,230 ^a
	% 1 Salep Tozu	6	0,110 ^{bcd}
	% 2 Salep Tozu	6	0,050 ^e
<i>Bifidobacterium longum subsp. longum</i>	Kontrol	6	0,099 ^{cde}
	% 1 Glukoz	6	0,198 ^{ab}
	%0,5 Salep Tozu	6	0,089 ^{cde}
	% 1 Salep Tozu	6	0,074 ^{de}
	% 2 Salep Tozu	6	0,049 ^e

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

4.6.Toplam KZYA

Bifidobacterium ve *Lactobacillus* türlerinin etkisiyle gerçekleşen sakkarit fermentasyonunun son ürünlerinin laktik asit ile asetik asit (C2:0), propiyonik asit (C3:0) ve bütirik asit (C4:0) gibi kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) olduğu bilinmektedir. KZYA miktarı prebiyotik substratın yapısına ve probiyotik bakteri türüne bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Cummings 1981, Rycroft ve ark. 2001a). Belirli bir zamanda mikrobiyota tarafından üretilen laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit miktarları hesaplanarak farklı substratların toplam KZYA miktarına etkisi prebiyotik substratın etkinliğini belirlemek açısından önemli bir değerdir ($T_{KZYA} = A + B + P + L$). Çalışmada bu değer fermentasyonun 48. saatinde elde edilen sonuçlar kullanılarak hesaplanmıştır (Palframan ve ark. 2003, Vulevic ve ark. 2004, Cardarelli ve ark. 2007).

Salep tozu içeren besi ortamındaki *Bifidobacterium* türlerinin toplam kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) değerleri üzerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçlarına göre; bakteri türü, fermentasyon süresi ve bakteri türü x fermentasyon süresi interaksyonu $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.6.1.).

Çizelge 4.6.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında fermentasyon sonunda *Bifidobacterium* türlerinin toplam KZYA değerleri etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ortalaması
Bakteri türü	19	3350736**
Hata	20	
Toplam	39	

** $p < 0,01$

Salep tozu içeren besi ortamındaki *Bifidobacterium* türlerinin ürettikleri toplam KZYA miktarları karşılaştırıldığında türler arasında farklılığın olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.6.2.) ($p < 0,01$). Uygulanan LSD testi sonuçlarına göre; tüm çeşitlerin istatistiki olarak farklı gruplara dahil olduğu ve bu gruplar içerisinde toplam KZYA için en yüksek değere %1 oranında glukoz içeren besi ortamındaki *B. infantis*, en düşük değere %0,5 salep tozu içeren besi ortamındaki *B. bifidum* ile %1 salep tozu içeren besi ortamında *B. longum* türünün sahip olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.6.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin toplam KZYA değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Bakteri Türü	Substrat Konsantrasyonu (%)	N	Ortalama Değerler
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Kontrol	2	1,580 ^j
	% 1 Glukoz	2	2,720 ^c
	% 0,5 Salep Tozu	2	0,980 ^k
	% 1 Salep Tozu	2	1,550 ^j
	% 2 Salep Tozu	2	1,170 ^m
<i>Bifidobacterium longum subsp. infantis</i>	Kontrol	2	1,290 ⁱ
	% 1 Glukoz	2	6,800 ^a
	% 0,5 Salep Tozu	2	1,820 ^g
	% 1 Salep Tozu	2	2,290 ^e
	% 2 Salep Tozu	2	2,710 ^d
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	Kontrol	2	1,120 ^m
	% 1 Glukoz	2	2,920 ^b
	% 0,5 Salep Tozu	2	1,710 ^h
	% 1 Salep Tozu	2	1,820 ^g
	% 2 Salep Tozu	2	1,070 ^o
<i>Bifidobacterium longum subsp. longum</i>	Kontrol	2	1,050 ^o
	% 1 Glukoz	2	2,050 ^f
	% 0,5 Salep Tozu	2	1,300 ^l
	% 1 Salep Tozu	2	1,060 ^o
	% 2 Salep Tozu	2	1,410 ^k

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

Yang ve ark. (2012) tarafından sindirilemeyen polisakkaritler ve inülinin *B. breve* üzerindeki gelişimleri sonucu üretilen toplan KZYA sonuçlarına göre, sindirilemeyen polisakkaritler ve inülin konsantrasyonuna bağlı olarak toplan KZYA miktarı artmaktadır. Bu değerler, 0,5; 1; 2 mg/mL sindirilemeyen polisakkarit konsantrasyonları için 49,6; 61,1; 82,1 mmol/L iken; 1, 2, 5 mg/mL inülin konsantrasyonları için 51,3; 64,2; 95,5 mmol/L olarak saptanmıştır.

4.7.Laktik Asit'in Toplam KZYA'ne Oranı ($\Delta L/\Delta TOPLAM_{KZYA}$)

Bifidobacterium ve *Laktobacillus* türlerinin temel laktik asit üreten bakteriler olmaları nedeniyle prebiyotiklerin *in vitro* ve *in vivo* fermentasyon çalışmalarında özellikle laktik asit üretimi önemlidir. Çeşitli oligosakkaritlerin prebiyotik etkilerinin araştırılmasında

bu bakteri grupları ve ürettikleri laktik asit miktarları kullanılmaktadır. Laktik asit'in toplam kısa zincirli yağ asitlerine oranı ($\Delta L/\Delta TOPLAM_{KZYA}$) eşitliğinde; Δ , başlangıç konsantrasyonu ile fermentasyonun 48. saatinde üretilen toplam KZYA konsantrasyonu arasındaki farkı belirtmektedir (Maischberger ve ark. 2009).

Salep tozu içeren besi ortamındaki *Bifidobacterium* türlerinin laktik asidin toplam KZYA miktarına oranı değerlerine etkisini belirlemek için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre, bakteri türleri arasındaki farklılık $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.7.1.).

Çizelge 4.7.1. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin $\Delta L/\Delta TOPLAM_{KZYA}$ değerleri etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ortalaması
Bakteri türü	19	0,071619**
Hata	20	
Toplam	39	

** $p<0.01$

Uygulanan LSD testi sonuçlarına göre, tüm çeşitlerin istatistiki olarak farklı gruplara dahil olduğu ve bu gruplar içerisinde %1-2 oranında salep tozu ve %1 oranında glukoz içeren besi ortamında *B. longum* çeşitlerinde laktik asitin toplam kısa zincirli yağ asitlerine oranı en yüksek değerine, %0,5 oranında salep tozu içeren besi ortamındaki *B. lactis* çeşidinde ise laktik asitin toplam kısa zincirli yağ asitlerine oranının en düşük değerine ulaştığı saptanmıştır (Çizelge 4.7.2.).

Çizelge 4.7.2. Salep tozu içeren besi ortamlarında *Bifidobacterium* türlerinin $\Delta L/\Delta TOPLAM_{KZYA}$ değerleri etkisine ilişkin LSD testi sonuçları

Bakteri Türü	Substrat Konsantrasyonu (%)	N	Ortalama Değerler
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Kontrol	2	0,500 ^j
	% 1 Glukoz	2	0,590 ^g
	%0,5 Salep Tozu	2	0,590 ^g
	% 1 Salep Tozu	2	0,600 ^f
	%2 Salep Tozu	2	0,620 ^e
<i>Bifidobacterium longum subsp. infantis</i>	Kontrol	2	0,610 ^e
	% 1 Glukoz	2	0,520 ⁱ
	%0,5 Salep Tozu	2	0,450 ^k
	% 1 Salep Tozu	2	0,380 ^m
	%2 Salep Tozu	2	0,410 ^l
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	Kontrol	2	0,200 ^k
	% 1 Glukoz	2	0,360 ⁿ
	%0,5 Salep Tozu	2	0,100 ^f
	% 1 Salep Tozu	2	0,200 ^p
	%2 Salep Tozu	2	0,280 ^o
<i>Bifidobacterium longum subsp. longum</i>	Kontrol	2	0,570 ^h
	% 1 Glukoz	2	0,810 ^a
	%0,5 Salep Tozu	2	0,660 ^d
	% 1 Salep Tozu	2	0,810 ^a
	%2 Salep Tozu	2	0,720 ^b

*Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0,01)

Çalışmada karbonhidrat kaynağı olarak kullandığımız salep tozunun *Bifidobacterium* türlerinin gelişimini destekleyerek daha yüksek oranda laktik asit ürettiği saptanmıştır. Araştırmada elde edilen bulgular prebiyotik substrat olarak diyet oligosakkaritlerinin (FOS, TOS, SOS ve FOS:TOS) kullanıldığı Vulevic ve ark. (2004)'nın sonuçları ile benzerlik gösterirken; Maischberger ve ark. (2009) tarafından farklı galaktooligosakkarit karışımlarının substrat olarak kullanıldığı çalışmanın sonuçlarından yüksek bulunmuştur.

5.SONUÇ

Nüfusun hızla artarak sınırlı sayıdaki besin kaynaklarının daha etkin ve verimli bir şekilde kullanıldığı dünyamızda beslenme ve biyogıda bileşenleri üzerine yapılan çalışmaların artması ile birlikte tüketiciler bu konularda duyarlı hale gelmektedir. “Vücudun temel besin öğeleri gereksinimini karşılarken, metabolizmayı güçlendirerek insan fizyolojisi ve metabolik fonksiyonlarını olumlu yönde etkileyen bileşenler” olarak tanımlanan “doğal gıdalar” ya da “fonksiyonel gıdalar” hastalıkların tedavisinde ve sağlıklı bir yaşam için daha da önem kazanmaktadır.

Probiyotik mikroorganizmalar arasında yer alan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri ile bu mikroorganizmaların gelişmesini teşvik eden prebiyotik gıda bileşenlerinin diyet ilavesi olarak çeşitli formülasyonlarda “fonksiyonel gıda” olarak yer alması dünyada bu ürünlerin tüketiminde artışa neden olmaktadır. Prebiyotik özelliğe sahip endüstriyel gıda bileşenlerinden çoğu inulin bazlı frukto oligomerler ya da galaktooligosakkarit bileşikleridir. Son yıllarda bu bileşenlerin yanı sıra probiyotik bakterilerin gelişmesini/aktivitesini stimüle eden potansiyel prebiyotik kaynağı olarak bitkisel ekstraktların kullanıldığı çalışmaların sayısı artış göstermektedir.

Yapılan bu çalışmada, ülkemizde yetiştirilen Kastamonu yöresine ait orkide türlerinden elde edilen salep tozunun bazı *Bifidobacterium* türlerinin gelişmesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Bifidobacterium türlerinin geliştirildiği salep tozu içeren sıvı besi ortamları ile kontrol numunesi olarak hiç karbonhidrat içermeyen ve %1 oranında glukoz içeren sıvı besi ortamlarından, 0., 12., 24., 36. ve 48. saatlerde örnekler alınmıştır. Bu örneklerde pH, hücre yoğunluğu (OD_{600}), prebiyotik aktivite sayısı (PAS), spesifik gelişme oranı (μ), KZYA miktarı (g/L), laktik asidin toplam KZYA ‘ya oranı değerleri belirlenmiştir.

Salep tozunun *Bifidobacterium* türleri ile *in vitro* fermentasyonu, pH ve hücre yoğunluğu değerleri üzerinde etkili olmuştur ($p < 0,01$). En yüksek pH değerleri, *B. longum* ve *B. bifidum* için negatif kontrolde saptanırken; en düşük pH değerleri, %1

glukoz ve %1-2 oranında salep tozu içeren besi ortamında *B. infantis* için elde edilmiş ve pozitif kontrolle paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Fermentasyon süresince asitlik gelişimine bağlı olarak *Bifidobacterium* türlerinin hücre yoğunluğu değerlerinin arttığı, en yüksek hücre yoğunluğu değerlerinin *B. infantis* için %0,5-1 oranında salep tozu içeren besi ortamında ve en düşük hücre yoğunluğu değerlerinin ise tüm mikroorganizmaların prebiyotik substrat içermeyen besi ortamında saptanmıştır. Çalışma sonunda elde edilen veriler baz alınarak PAS sonuçları incelendiğinde *B. bifidum*, *B. lactis* ve *B. longum*, çeşitlerinin istatistiki olarak aynı guruba dahil olduğu ve en yüksek PAS değerine sahip olduğu; *B. infantis* çeşidinin ise farklı grupta yer aldığı ve en düşük PAS değerine sahip olduğu saptanmıştır ($p<0,01$).

Bakteriyel popülasyondaki değişim eşitliğinden faydalanılarak hesaplanan spesifik gelişim oranları sonuçları değerlendirildiğinde, *B. longum* ve *B. lactis* çeşitlerinin istatistiki olarak aynı guruba dahil olduğu, *B. bifidum* ve *B. infantis* çeşitlerinin ise farklı gruplarda yer aldığı ve en yüksek spesifik gelişme oranına *B. infantis* 'in; en düşük spesifik gelişme oranına ise *B. bifidum* 'un sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$).

Bifidobacterium türleri tarafından üretilen KZYA miktarları incelendiğinde, üretilen en yüksek laktik asit miktarının %1 glukoz içeren besi ortamında *B. infantis* için; en yüksek asetik asit miktarının %1 oranında glukoz içeren besi ortamındaki *B. infantis* için; en yüksek propiyonik asit miktarının %1 oranında glukoz içeren besi ortamındaki *B. bifidum* için ve %0,5 oranında salep tozu içeren besi ortamındaki *B. lactis* için; en yüksek bütirik asit miktarının %0,5 oranında salep tozu içeren besi ortamındaki *B. lactis* için elde edildiği belirlenmiştir. Toplam KZYA üretimi en yüksek %1 glukoz içeren besi ortamında *B. infantis* için saptanırken; bu değeri %1 glukoz içeren besi ortamında *B. lactis* ve *B. bifidum* ile %1-2 oranında salep tozu içeren besi ortamında *B. infantis* takip etmiştir. Ayrıca, en yüksek $\Delta L/\Delta TOPLAM_{KZYA}$ oranı, probiyotik kültür olarak *B. longum*, %1-2 salep tozu ve %1 glukoz içeren besi ortamlarında saptanmıştır.

Sonuç olarak, çalışmada kullanılan *Bifidobacterium* türlerinin prebiyotik substrat olarak seçilen salep tozunu fermente edebildikleri ve fermentasyon özelliklerinin pozitif kontrol olarak kullanılan glukoz ile elde edilen sonuçlarla paralellik gösterdiği ayrıca

elde edilen sonuçların FOS, GOS ve inülin gibi prebiyotik etkinliği kanıtlanmış substratların kullanıldığı *in vitro* çalışmaların sonuçları ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu çalışma ile salep tozunun *Bifidobacterium* türlerinin gelişmesi/aktivitesi üzerine olumlu etki gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca salep tozunun *Bifidobacterium* türlerinin canlılığı, devamlılığı, kolonizasyonu üzerine yapılacak farklı çalışmalarla desteklenerek gıda sanayi ve farmakoloji alanında prebiyotik potansiyele sahip bileşen olarak kullanılabilmesi belirlenmiştir.

Salep tozunun substrat özelliğini ve prebiyotik etkinliğini doğrulamak amacıyla yapısal ve kimyasal analizler uygulanarak salep tozunun biyokimyasal özellikleri ve polisakkarit kompozisyonunun belirlendiği çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. *Bifidobacterium* türlerinin prebiyotik fermentasyonu sırasındaki moleküler mekanizmaları tespit edilmeli böylece moleküler yapılarında meydana gelen değişiklikler ortaya çıkarılmalıdır. Ayrıca, insan fekal florasının kullanıldığı *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla da salep tozunun bifidojenik özellikleri mevcut çalışmalardan elde edilen sonuçlarla desteklenmelidir. Bütün bu bilgilerin ışığında salep tozu gibi potansiyel bir prebiyotiğin, probiyotik bakterilerle kombine bir şekilde yeni fonksiyonel ürünlerde yer alması sağlanarak, fonksiyonel gıdaların çeşitlendirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Akahn, S. 2002.** Laktuloz üretimi, gıda ve farmakoloji endüstrisinde kullanımı. *Gıda*, 27: 475-478.
- Akgül, A. 1993.** Baharat bilimi ve teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği*,15: 446.
- Al-Ghazzewi, F.H., Khanna, S., Tester, R.F., Piggott, J. 2007.** The potential use of hydrolysed konjac glucomannan as a prebiotic. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 87: 1758-1766.
- Anonim, 2012.** Transgenomics Application Book, Chapter IV: HPLC Columns. USA, 284-293 s.
- AOAC 1990.** Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, Vol. II, (Ed) S. Williams, Arlington, D.C. Washington, edn. 15.
- AOAC 985.29.** Total dietary fiber determination. Velp Scientifica. 1-2.
- Arditti, J., Ghani, A.K.A. 2000.** Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist*, 145: 367-421.
- Aybeke, M., Sezik, E., Olgun, G. 2010.** Vegetative anatomy of some *Ophrys*, *Orchis* and *Dactylorhiza* (Orchidaceae) taxa in Trakya region of Turkey. *Flora*, 205: 73-89.
- Başığit, G. 2004.** Bazı laktik asit bakterilerinin probiyotik olma özelliklerinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.
- Baytop, T. 1999.** Türkiye’de bitkilerle tedavi: Geçmişte ve Bugün. 2. Baskı. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 480s.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L. 2002.** Biochemistry. Ed: Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L., Freeman, New York. 541s.
- Bernet, M.F., Brassart, D., Neeser, J.R., Servin, A. 1993.** Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. *Applied and Environmental Microbiology*, 59: 4121-4128.
- Bouhnik, Y., Flourie, B., D’Agay-Abensour, L. 1997.** Administration of transgalactooligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *Journal of Nutrition*, 127: 444-448.
- Brannon, C. 2003.** Prebiotics: feeding friendly bacteria. *Today's Dietitian*, 7: 12.
- Buriti, F.C.A, Rocha, J.S, Saad, S.M.I. 2005.** Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *International Dairy Journal*, 15: 1279-88.
- Büyüktortop, Ş.A., Yiğitarıslan, S. 2012.** Fruktoligosakkarit bileşenleri ile *Lactobacillus acidophilus*’un etkileşiminin değerlendirilmesi ve karşılaştırılması. *SDU Journal of Science*, 7: 15-22.
- Caicedo, R.A., Schanler, R.J., Li, N., Neu, J. 2005.** The developing intestinal ecosystem: implications for neonate. *Pediatric Research*, 58: 625-628.

- Campbell, J.M., Fahey, G.C.J., Wolf, B.W. 1997.** Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short chain fatty acids, pH and microflora in rats. *Journal of Nutrition*, 127: 130-136.
- Cardarelli, R.H., Saad, S.M.I., Gibson, G.R., Vulevic, J. 2007.** Functional petti-suisse cheese: Measure of the prebiotic effect. *Anaerobe*, 13: 200-207.
- Ceyhan, N., Alç, H. 2012.** Bağırsak mikroflorası ve probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5: 107-113.
- Charalampopoulos, D., Pandiella, S.S., Webb, C. 2003.** Evaluation of the effect of malt, wheat and barley extracts on the viability of potentially probiotic lactic acid bacteria under acidic conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 82: 133-141.
- Chen, H.L., Sheu, W.H., Tai, T.S., Liaw, Y.P., Chen, Y.C. 2003.** Konjac supplement alleviated hypercholesterolemia and hyperglycemia in type-2 diabetic subjects- a randomized double-blind trial. *Journal of American College of Nutrition*, 22: 36-42.
- Chou, T.W., Sheih, C.I., Fang, I.T. 2013.** The applications of polysaccharides various mushroom wastes as prebiotics in different systems. *Journal of Food Science*, 78: 1041-1048.
- Citil, O.B., Tekinşen, K.K. 2011.** A comparative study on fatty acid composition of salep obtained from some *Orchidaceae* species. *Chemistry of Natural Compounds*, 46: 943-945.
- Collins, M.D., Gibson, G.R. 1999.** Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69: 1052-1057.
- Commane, D., Hughes, R., Shortt, C., Rowland, I. 2005.** The potential mechanisms involved in the anticarcinogenic action of probiotics. *Mutation Research*, 591: 276-289.
- Coşkun, T. 2006.** Pro-, Pre- ve Sinbiyotikler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 49: 128-148.
- Coşkun, T. 2011.** İmmünönütrisyon dan farmakonütrisyonu na. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 54: 164-181.
- Crittenden, R., Karppinen, S., Ojanen, S., Tenkanen, M., Fagerström, R., Matto, J., Saarela, M. Mattila-Sandholm, T., Poutanen K. 2002.** *In vitro* fermentation of cereal dietary fibre carbonhydrates by probiotic and intestinal bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 781-789.
- Cruz, A.G., Faria, J.A.F., Van Dender, A.G.F. 2007.** Packaging system and probiotic dairy foods. *Food Research International*, 40: 951-956.
- Cummings, J.H. 1981.** Short chain fatty acids in the human colon. *Gut*, 22: 763-779.
- Cummings, J.H. 1997.** The large intestine in nutrition and disease. Ed: Institute Danone, Brussels, 149s.
- Cummings, J.H., Macfarlane, G.T. 2002.** Gastrointestinal effects of prebiotics. *British Journal of Nutrition*, 87: 145-51.

- Çağlar, E., Kargul, B., Tanboğa, I. 2005.** Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. *Oral Diseases*, 11: 131-137.
- Çağlayan, K., Özavcı, A., Eskalen, A. 1998.** Doğu Akdeniz bölgesinde yaygın olarak yetişen bazı salep orkidelerinin embriyo kültürü kullanılarak *in vitro* koşullarda çoğaltılmaları. *Turkish Journal of Agriculture Forestry*, 22: 187-191.
- Çakır, İ. 2003.** *Lactobacillus* ve Bifidobakterlerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi. *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Çelikyurt, G., Arıcı, M. 2008.** Gıda koruyucusu olarak mikrobiyal kaynaklı organik asitler ve önemi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, Erzurum.
- David, J.A., Jenkins, C.W., Kendall, C., Vuksan, V. 1999.** Inulin, oligofructose and intestinal function. *Journal of Nutrition*, 129: 1431-1433.
- Den Besten, G., Van Eunen, K., Groen, A.K, Venema, K., Reijnegound, D.J., Bakker, B.M. 2013.** The role of short chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota and host energy metabolism. *Journal of Lipid Research*, 54: 2325-40.
- Desphande, G., Rao, S., Patole, S. 2011.** Progressing the field of probiotics. *Current Opinion in Gastroenterology*, 27: 13-18.
- Doğan, M. 2012.** Probiyotik bakterilerin gastrointestinal sistemdeki etki mekanizması. *Electronic Journal of Food Technologies*, 7: 20-27.
- Duwat, P., Cesselin, B., Sourice, S., Gruss, A. 2000.** *Lactococcus lactis*, a bacterial model for stress responses and survival. *International Journal of Food Microbiology*, 55: 83-6.
- Dwivedi, G., Fitz, L., Hegen, M., Martin, S.W., Harrold, J., Heatherington, A., Li, C. 2014.** A multiscale model of interleukin-6-mediated immune regulation in Crohn's disease and its application in drug discovery and development. *CPT Pharmacometrics and Systems Pharmacology*, 3: 89.
- Ebihara, K., Schneeman, B.O. 1989.** Interaction of bile acids phospholipids, cholestreol and triglycerides with dietary fibers in the small intestine of rats. *Journal of Nutrition*, 119: 1100-1106
- Egan, H., Kirk, R., Sawyer, R. 1981.** The Luff Schoorl method. Sugars and preserves. In: Pearson`s chemical analysis of foods. 8th edition, Longman Scientific and Technical: Harlow, UK, pp. 152-153.
- Elahi, S., Farnell, P., Thurlow, K.J., Scotti, C., Varnam, A.H. 2008.** Referee analysis of probiotic food Supplements. *Food Control*, 19: 925-929.
- Erdem, İ., Çiçek, Ş.G., Yücesoy, D.B., Yüksel, K.F., Yüksel, S., Karagül, E. 2004.** *In vitro* effect of levofloxacin and vancomycin combination against aminoglycosid resistant *Enterococci*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 20: 92- 94.
- Erdoğan, K., Akpınar, O. 2006.** Ksilooligosakkaritlerin önemi ve üretimi. Türkiye 9. Gıda Kongresi Bildiriler Kitabı, 24-26 Mayıs, Bolu.
- Erem, F., Küçükçetin, A., Certel, M. 2013.** *Bacillus* türlerinin probiyotik olarak değerlendirilmesi. *Gıda*, 38: 247-254.

- Erzurumlu, G.S., Doran, İ. 2011.** Türkiye’de salep orkideleri ve salep kültürü. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15: 29-34.
- Farhoosh, R., Riazi A. 2007.** A compositional study on two current types of salep in Iran and their rheological properties as a function of concentration and temperature. *Food Hydrocolloids*, 21: 660-666.
- Farnworth, E.R. 2001.** Handbook of nutraceuticals and functional foods: probiotics and prebiotics. Ed: Wildman, R.E.C. CRC Press, Boca Raton London New York Washington, D.C. 560s.
- Fiordaliso, M., Kok, N., Desager, J., Goethals, F., Deboyser, D., Roberfroid, M., Delzene, N. 1995.** Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins in rats. *Lipids*, 30: 163-167.
- Fooks, L.J., Fuller, R., Gibson, G.R. 1999.** Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal*, 9: 53-61.
- Francis Suh, J.K., Matthew, J.K., Howard, W.T. 2000.** Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: A review. *Biomaterials*, 21: 2589-98.
- Fukushima, Y., Kawata, Y., Hara, H., Terada, A., Mitsuoka, T. 1998.** Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children. *International Journal of Food Microbiology*, 42: 39-44.
- Fuller, R. 1989.** Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 365-378.
- Fuller, R. 1992.** Probiotics. The Scientific Basis. Chapman & Hall, London. 209-224.
- Gallaher, G.R., Khil, J. 1999.** The effect of synbiotics on colon carcinogenesis in rats. *Journal of Nutrition*, 129: 1483-1487.
- Gallaher, D.D., Gallaher, C.M., Mahrt, G.J., Carr, T.P., Hollingshead, C.H., Hesslink, R., Wise, J.A. 2002.** A glucomannan and chitosan fibre supplement decreases plasma cholesterol and increases cholesterol excretion in overweight normocholesterolemic humans. *Journal of American College of Nutrition*, 2: 428-33.
- Genç, E., Genç, A.M., Aktaş, M., Bircan-Yıldırım, C., İkizdoğan, T.A. 2011.** Su ürünleri yetiştiriciliğinde mannan-oligosakkarit (MOS) kullanımını üzerine Türkiye’de farkındalık yaratma. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 7: 18-24.
- Georgiadis, N., Ritzoulis, C., Charchari, E., Koukiotis, C., Tsiptsias, C., Vasiliadou, C. 2012.** Isolation, characterization and emulsion stabilizing properties of polysaccharides from *Orchid* roots (salep). *Food Hydrocolloids*, 28: 68-74.
- Gibson, G.R., Wang, X. 1994.** Inhibitory effects of *Bifidobacteria* on other colonic bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, 77: 421-420.
- Gibson, G.R., Beatty, E.B., Wang, X., Cummings, J.H. 1995.** Selective stimulation of *Bifidobacteria* in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*, 108: 975-982.
- Gibson, G.R. 1999.** Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics: Oligofructose and inulin. *Journal of Nutrition*, 129: 1438-1441.

- Gibson, G.R., Williams, C.M. 2000.** Functional foods. concept to product CRC Pres. 374s.
- Gibson, G.R., Probert H.M., Van Loo 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.
- Gibson, G.R., Roberfroid, M. 2008.** Handbook of prebiotics. Boca Raton, FL: CRC Press.504s.
- Gill, H.S. 2003.** Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastrointestinal tract. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 17: 755-773.
- Goldman, C.G., Barrado, D.A., Balcarca, N. 2006.** Effect of a probiotic food as an adjuvant to triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* infection in children. *Nutrition*, 22: 984-8.
- Gomez, E., Tuohy, K.M., Gibson, G.R., Klinder, A., Costabile, A. 2010.** *In vitro* evaluation of the fermentation properties and potential prebiotic activity of agave fructans. *Journal of Applied Microbiology*, 108: 2114-2121.
- Gorbach, S.L. 2000.** Probiotics and gastrointestinal health. *American Journal of Gastroenterology*, 95: 2-4.
- Gorbach, S.L. 2002.** Probiotics in the third millennium. *Digestive and Liver Disease*, 34: 2-7.
- Gosh, S., Van Heel, D., Playford, R.J. 2004.** Probiotics in inflammatory bowel disease: is it all gut floara modulation. *Gut*, 53: 620-2.
- Grajek, W., Olejnik, A., Sip, A. 2005.** Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods, *Acta Biochimica Polonica*, 52: 665-671.
- Green, C. 1997.** Fibre in enteral nutrition. Nutricia Research Communications, Netherlands, 28s.
- Gugler, J. 2008.** Investigations on the prebiotic effect of a novel galactooligosaccharide mixture: using pure and mixed culture fermentations. *MSc Thesis*, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Department of Food Science and Technology, Vienna.
- Gülmez, M., Güven, A. 2002.** Probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotikler. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8: 83-89.
- Gültekin, M., 2004.** Probiyotikler. *ANKEM Dergisi*, 18: 87-89.
- Gümüş, C. 2009.** Batı Karadeniz bölgesi'nde salep elde edilmesinde kullanılan bazı orkide türlerinin (*Orchidaceae*) çoğaltım yöntemleri üzerinde araştırmalar. *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Gürgün, V., Halkman, K. 1990.** Standarda dayalı sayım yöntemleri: Mikrobiyolojide sayım yöntemleri. Ed: 2. Baskı. *Gıda Teknolojisi Derneği*, 7: 1-6.
- Hanson, L., Dahlman Höglund, A., Karlson, M. 1999.** Normal microbial flora of the gut: Probiotics, other nutritional factors and intestinal microflora. Ed: Hanson, L., Yolken, R.H. Nestle Nutrition Workshop series. 42: 217-228.

- Haryadi, Putri, W.A., Cahyanto, N.M. 2013.** Prebiotic activity of phosphorylated resistant corn starch. The 4th International Conference of Indonesian Society for lactic Acid Bacteria (4th IC-ISLAB) Yogyakarta, 25-26 January. Faculty of Agricultural Technology, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta, Indonesia.
- Hashemi, S.M., Shahidi, F., Mortazavi, S.A., Milani, E., Eshaghi, Z. 2013.** Metabolism of extracted inulin from Helianthus tuberosus by *Lactobacillus* strains isolated from traditional Kordish cheese. *International Food Research Journal*, 20: 3283-3286.
- He, C., Hu, M., Guowei, S., Qi, M., Tao, Q. 2011.** Effects of Prebiotics on Growth of *Bifidobacterium bifidum*. International conference on human health and biomedical engineering, Jilin/China. 981-984 s.
- 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.
- Hill, H.S., Guarner, F. 2004.** Probiotics and human health: A clinical perspective. *Postgraduate Medical Journal*, 80: 516-526.
- Holt, S.M., Miller-Fosmore, C.M., Cote, G.L. 2005.** Growth of various intestinal bacteria on alternansucrase-derived oligosaccharides. *Letters in Applied Microbiology*, 40: 385-390.
- 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.
- Iji, P.A., Tivey, D.R. 1999.** The use of oligosaccharides in broiler diets. Proceedings of the 12th European Symposium on Poultry Nutrition. World's Poultry Sci. Assoc., Dutch Branch. Veldhoven, the Netherlands, 129: 1402-1406.
- Ishibashi, N., Shimamura, S. 1993.** *Bifidobacteria*: Research and development in Japan. *Food Technology*, 47: 126-135.
- Ishwarya, S.P., Prabhasankar, P. 2014.** Prebiotics: Application in bakery and pasta products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54: 511-522.
- Isolauri, E. 2004.** The role of probiotics in paediatrics. *Current Pediatric reviews*, 14: 104-109.
- Isselbacher, K.J. 2005.** Irritable bowel syndrome: the possible benefits of probiotics. *Post Graduate Medicine*, 5: 117.
- Izzo, M.T. 2001.** Inulin and oligofructose in functional confections. *International Dental Journal*, 51.
- Ìmmerseel, V.F., Boyen, F., Gantois, I., Timbermont, L., Bohez L., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Ducatelle R. 2005.** Supplementation of coated butyric acid in the feed reduces colonization and shedding of salmonella in poultry. *Poultry Science*, 84: 1851–1856.

- İnanç, N., Şahin, H., Çiçek, B. 2005.** Probiyotik ve prebiyotiklerin sağlık üzerine etkileri. *Erciyes Tıp Dergisi*, 27: 122-127.
- Kalliomaki, M., Salminen, S., Arvilommi, H. 2001.** Probiotics in primary prevention of atopic disease: A randomized placebo-controlled trial. *Lancet*, 357: 1076-1079.
- Kaneko, T., Kohmoto, T., Kikuchi, H., Shiota, M., Lino, H., Mitsuoka, T. 1994.** Effects of isomaltooligosaccharides with different degrees of polymerization on human faecal *Bifidobacteria*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 58: 2288-90.
- Kaplan, H., Hutkins, W.R. 2000.** Fermentation of fructooligosaccharides by Lactic acid bacteria and *Bifidobacteria*. *Applied and Environmental Microbiology*, 6: 2682-2684.
- Kaptan, H. 2000.** Bifidobacterialar. *Gıda*, 25: 459-465.
- Karaman, S., Yılmaz, M.T., Ertugay, M.F., Baslar, M., Kayacier, A. 2012.** Effect of ultrasound treatment on steady and dynamic shear properties of glucomannan based salep dispersions: Optimization of amplitude level, sonication time and temperature using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19: 928-938.
- Kasperek, M., Grimm, U. 1999.** European trade in Turkish salep with special reference to Germany. *Economic Botany*, 53: 396-406.
- Kaya, S., Tekin, A. R. 2001.** The effect of salep content on the rheological characteristics of a typical ice-cream mix. *Journal of Food Engineering*, 47: 59-62.
- Kayacier, A., Doğan, M. 2006.** Rheological properties of some gums-salep mixed solutions. *Journal of Food Engineering*, 72: 261-265.
- Keçeli, T., Konar, A. 2003.** Salep ve alternatif bazı stabilizatör maddelerin inek sütünden yapılan dondurmaların özelliklerine olan etkileri. *Gıda*, 28: 415-419.
- Khailova, I., Dvorak, k., Arganbrigh, K.M., Halpern, M.D., Kinouchi, Yajima, M., Dvorak, B. 2009.** *Bifidobacterium bifidum* improves intestinal integrity in a rat model of necrotizing enterocolitis . *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver*, 297: 940-949.
- Kılıç, S. 2001.** Süt endüstrisinde laktik asit bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 542: 451-2.
- Kneifel, W., Rajal, A., Kulbe, K.D. 2000.** *In vitro* growth behavior of probiotic bacteria in culture media with carbonhydrates of prebiotic importance. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 12: 27-34.
- Kohmoto, T., Fukui, F., Takafku, H., Machida, Y., Arai, M. Mitsuoka, T. 1988.** Effect of isomalto-oligosaccharides on human faecal flora. *Bifidobacteria Microflora*, 7 : 61-69.
- Kolida, S., Tuohy, S., Gibson, G.R. 2002.** Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 2: 193-197.
- Kondepudi, K.K., Ambalam, P., Nilsson, I., Wadström, T., Ljungh, A. 2012.** Prebiotic non-digestible oligosaccharides preference pf probiotic *Bifidobacteria* and antimicrobial activity against *Clostridium difficile*. *Anaerobe*, 18: 489-497.

- Kopp-Hoolihan, L. 2001.** Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. *Journal of the American Dietetic Association.*, 101: 229-238.
- Laurens-Hattinh, A., Viljoen, B.C. 2001.** Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11: 1-17.
- Lee, W.H., Park, S.Y., Jung, S.J. Shin, S.W. 2002.** Chitosan oligosaccharides, dp-28, have prebiotic effect on the *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus* sp. *Anaerobe*, 8: 319-324.
- Lee, Y., Salminen, S. 1995.** The coming of age of probiotics. *Trends in Food Science and Tecnology*, 6: 241-245.
- Li, P., Gatlin, D. M. 2004.** Evaluation of the prebiotic GroBiotic®-A and brewers yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. *Aquaculture*, 248: 197-205.
- Loening-Baucke, V., Miele, E., Staiano, A. 2004.** A fiber (glucomannan) is beneficial in the treatment of childhood constipation. *Pediatrics*, 113: 259-64.
- Luo, D.Y. 1992.** Inhibitory effect of refined *Amorphopllus konjac* on MNNG-induced lung cancers in mice. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 14: 48-50.
- Macfabe, D.F., Cain, D.P., Rodriguez-Capote, K., Franklin, A.E., Hoffman, J.E., Boon, F., Taylor, R., Kavaliers, M., Ossenkoop, K.P. 2007.** Neurobiological effects of intraventricular propionic acid in rats: Possible role of short chain fatty acids on the pathogenesis and characteristics of autism spectrum disorders. *Behavioural Brain Research*, 176: 149-169.
- Macfarlane, G.T., Macfarlane, S., Gibson, G.R. 1998.** Validation of a three-stage compound continuous culture system for investigating the effect of retention time on the ecology and metabolism of bacteria in the human colon. *Microbial Ecology*, 35: 180-187.
- Macfarlane G.T., Steed, H., Macfarlane, S. 2008.** Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *Journal of Applied Microbiology*, 104: 305-344.
- Maischberger, T., Nguyen, T., Gugler, J., Zehetner, R., Splechtna, B., Kneifel, W., Rastall, A.R., Halritch, D. 2009.** Investigations on the prebiotic effect of a novel galactooligosaccharide mixture: using pure and mixed culture fermentations: Biocatalytic synthesis of prebiotic galacto-oligosaccharides: from enzyme production to product formation, Ed: Maischberger, T., University of Natural Resource and Applied Life Sciences, Department of Food Science and Technology, Vienna, 87-104.
- Mandalari, G., Faulks, R.M., Bisignano, C., Waldron, K.W., Narbad, A., Wickham, M.S.J. 2010.** *In vitro* evaluation of the prebiotic properties of almond skins (*Amygdalus communis* L.). *FEMS Microbiology Letters*, 304: 116-122.
- Mandalari, G., Nueno Polap, C., Tuohy, K., Gibson, G.R., Bennett, R.N., Waldron, K.W., Bisignano, G., Narbad, A., Faulds, C.M. 2006.** *In vitro* evaluation of the prebiotic activity of a pectic oligosaccharide-rich extract enzymatically derived from bergamot peel. *Applied Microbiology Biotechnology*, 73: 1173-1179.
- Manderson, K., Pinart, M., Touhy, K.M., Grace, E.W., Hotchkiss, A.T., Widmer, W., Yadhav, M.P., Gibson, G.R., Rastall, R.A. 2005.** *In vitro* determination of

prebiotic properties of oligosaccharides derived from an orange juice manufacturing y-product system. *Applied Environmental Microbiology*, 71: 8383-8389.

Manning, T.S., Gibson, G.R. 2004. Prebiotics. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 18: 287-298.

Manz, W., Amann, R., Ludwig, W., Vancanneyt, M., Schleifer, K.H. 1996. Application of a suite of 16s rRNA-specific oligonucleotide probes designed to investigate bacteria of the *phylum cytophage-flavobacter-bacteroides* in the natural environment. *Microbiology*, 142: 1097-1106.

Marini, A., Negretti, F., Boehm, G. 2003. Pro- and pre-biotics administration in preterm infants: colonization and influence on faecal flora. *Acta Paediatrica Supplement*, 441: 80-1.

Markowitz, J.E., Bengmark, S. 2002. Probiotics in health and disease in the pediatric patient. *Pediatric Clinics of North America*, 49: 127-141.

Martin, O.E., Gibson, G.R., Rastall, R.A. 2002. Comparison of the *in vitro* bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides. *Journal of Applied Microbiology*, 93: 505-511.

Martino, F., Martino, E., Morrone, F., Carnevali, E., Forcone, R., Niglio, T. 2005. Effect of dietary supplementation with glucomannan on plasma total cholesterol and low density lipoprotein cholesterol in hypercholesterolemic children. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Disease*, 15: 174-80.

Masco, L., Ventura, M., Zink, R., Huys, G., Swings, J. 2004. Phylogenetic taxonomic analysis of *Bifidobacterium animalis* and *Bifidobacterium lactis* reveals relatedness at the subspecies level: reclassification of *Bifidobacterium animalis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* subsp. nov. and *Bifidobacterium lactis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* subsp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54: 1137-1143.

Mayo, B., Van sinderen, D. 2010. *Bifidobacteria: Genomics and molecular aspects*. Ed: Mayo, B., Van sinderen, D. Caister Academic press, Norwich, UK. 266s.

Mazmanian, S.K., Round, J.L., Kasper, D. 2008. A microbial symbiosis factor prevents inflammatory disease. *Nature*, 453: 620-625.

McSweeney, P.L.H., Ottogalli, G., Fox, P.F. 2004. Diversity of cheese varieties: an overview. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 2: 1-22.

Mercenier, A., Pavan, S., Pot, B. 2002. Probiotics as biotherapeutic agents: Present knowledge and future prospects. *Current Pharmaceutical Design*, 8: 99.

Metchnikoff, E. 1907. Prolongation of life. William Heinemann, London.

Metin, M. 2001. Süt Teknolojisi; Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları. Ege Üniversitesi Basımevi, 23: 802.

Michel, C., Kravtchenko, T.P., David, A., Gueneau, S., Kozłowski, F., Cherbut, C. 1998. *In vitro* prebiotic effects of Acacia gums onto the human intestinal microbiota depends on both origin and environmental pH. *Anaerobe*, 4: 257-266.

- Mitsuoka, T. 1984.** Taxonomy and ecology of *Bifidobacteria*. *Bifidobacteria and Microflora*, 3: 11-28.
- Molan, A.L., Lila, M.A., Mawson, J., De, S. 2009.** *In vitro* and *in vivo* evaluation of the prebiotic activity of water-soluble blueberry extracts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25: 1243-1249.
- Moongngarm, A., Trachoo, N., Sirigungwan, N. 2011.** Low molecular weight carbohydrates, prebiotic content, and prebiotic activity of selected food plants in Thailand. *Journal of Food Science and Technology*, 3: 269-274.
- Moro, G., Arslanoğlu, S., Stahl, B., Jelinek, J., Wahn, U., Boehm, G. 2006.** A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during first months of age. *Archives of Disease in Childhood*, 91: 814-819.
- Moshfegh, A., Friday, J., Goldman, J., Ahuja, J. 1999.** Presence of inulin and oligofructose in the diets of Americans. *Journal of nutrition*, 129: 1407-1411.
- Mumcu, Ş.A., Temiz, A. 2014.** Effects of prebiotics on growth and acidifying activity of probiotic bacteria. *Gıda*, 39: 71-77.
- Mussatto, S.I., Mancilha, I.M. 2007.** Non-digestible oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers.*, 68: 587-597.
- Nilson, U., Öste, R., Jagerstad, M., Birkhed, D., 1988.** Cereal fructans: *in Vitro* studies on availability in rats and humans. *Journal of Nutrition*, 119: 1325-1330.
- Ninnes, K . 1999.** Inulin and oligofructose, What are they? *Journal of Nutrition*, 129: 1402-1406.
- Nguyen, N.H.T., Morland, C., Villa Gonzalez, S., Rise, F., Storm-Mathisen, S., Gundersen, V., Hassel, B. 2007.** Propionate increases neuronal histone acetylation but is metabolized oxidatively by glia. Relevance for propionic acidemia. *Journal of neurochemistry*, 101: 806-814.
- O'Flaherty, 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.
- Olano-Martin, E., Mountzouris, K.C., Gibson, G.R., Rastall, R.A. 2000.** *In vitro* fermentability of dextran, oligodextran and maltodextrin by human gut bacteria. *British Journal of Nutrition*, 83: 247-255.
- Olano-Martin, E., Gibson, G.R. and Rastall, R.A. 2002.** Comparison of the *in vitro* bifidogenic properties of pectins and pecticoligosaccharides. *Journal of Applied Microbiology*, 93: 505-511.
- Ölçer, Z. 2011.** Prebiyotik üretimi. *Doktora Tezi*, GYTE Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Gebze.
- Özbaş Y. 1995.** Bifidobakteriler ve *Laktobacillus acidophilus*: Özellikleri, kullanımları, yararlı etkileri ve ürün uygulamaları. *Gıda Teknolojisi Dergisi*, 18: 247-51.
- Özcan, T. 2012.** Fonksiyonel süt ürünleri ve sağlıklı yaşam. *Tarım Türk Dergisi*, 38: 156-160.

- Özden, A. 2005a.** Gastro-intestinal sistem ve probiyotik-prebiyotik-sinbiyotik. *Güncel Gastroenteroloji*, 9: 124-133.
- Özden, Ali. 2005b.** Laktuloz - Prebiyotik (Lactulose). *Güncel Gastroenteroloji*, 9: 209-222.
- Özden, A. 2013.** Probiyotik “Sağlıklı yaşam için yararlı dost bakteriler”. *Güncel Gastroenteroloji*, 17: 22-38.
- Özen, H. 2004.** Pre-/pro-biyotikler ve sinbiyotikler. VI. Ulusal Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Kongresi, 5-7 Mayıs 2004. Ankara.
- Özkilinç, Y.A. 2009.** Prebiyotik süzme yoğurt üretim olanakları üzerine araştırmalar. *Yüksek Lisans Tezi*, CBÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.
- Özkoç, I., Dalcı, M. 1991.** Bazı orkide türlerine ait tohumların çimlenmesi üzerine yüzeysel sterilizasyonda kullanılan sodyum hipokloritin etkisi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Dergisi*, 3: 116-122.
- Palframan, R., Gibson, G.R., Rastall, R.A. 2003.** Development of a quantitative tool for the comparison of the prebiotic effect of dietary oligosaccharides. *Letters in Applied Microbiology*, 37: 281-284.
- Parracho H., McCartney A.L., Gibson G.R. 2007.** Probiotics and prebiotics in infant nutrition. *Proceedings of Nutrition Society*, 66: 405-411.
- 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.
- Penner, R., Fedorak, R.N., Madsen, K.L. 2005.** Probiotics and nutreaceuticals: non-medicinal treatments of gastrointestinal diseases. *Current Opinion in Pharmacology*, 5: 1-8.
- Perin, S., Warchol, M., Grill, J.P., Schneider, F. 2001.** Fermentations of fructooligosaccharides and their components by *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697 on batch culture in semi-synthetic medium. *Journal of Applied Microbiology*, 90: 859-65.
- Picco, M. 2008.** What exactly are probiotics? What health benefits do they offer? *Mayo Foundation for Medical Education Research (MFMER)*.
- Polari, L., Ojansivu, P., Makela, Eckerman, C., Holmbom, B., Salminen, S. 2012.** Galactoglucomannan extracted from spruce (*Picea abies*) as a carbohydrate source for probiotic bacteria. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 60: 11037-11043.
- Pompei, A., Cordisco, L., Raimondi, S., Amaretti, A., Pagnoni, U.M., Matteuzzi, D., Rossi, M. 2008.** In vitro comparison of the prebiotic effects of two inulin-type fructans. *Anaerobe*. 14: 280-6.
- Puupponen-Pimia, R., Aura, A.M., Oksman-Caldentey K.M., Myllärinen, P., Saarela, M., Mattila-Sanholm. 2002.** Development of functional ingredients for gut health. *Trends Food Science and Technology*, 13: 3-11.
- Quigley, E.M. 2010.** Prebiotics and probiotics; modifying and mining the microbiota. *Pharmacology Research*, 61: 213-8.

- Reddy, B.S., Simi, B., Engle, A. 1994.** Biochemical epidemiology of colon cancer: effects of types of dietary fiber on colonic diacylglycerols in women. *Gastroenterology*, 106: 883-889.
- Reddy, B.S. 1999.** Possible mechanisms by which pro- and prebiotics influence colon carcinogenesis and tumor growth. *Journal of Nutrition*, 129: 1478-1482.
- Reid, G., Jass, J., Sebuly, M.T., McCormick, J.K. 2003.** Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clinical Microbiology Reviews*, 16: 658-672.
- Reniert, B. 2002.** Friendly tenants in the human gut: the genome of *B. longum*. *Genome News Network*.
- Roberfroid M.B. 1999.** Fructooligosaccharides. *Food Science Nutrition*, 39: 267-274.
- Roberfroid, M.B. 2000.** Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 1682-1687.
- Roberfroid, M. 2007.** Prebiotics: The concept revisited. *Journal of Nutrition*, 137: 830-7.
- Rohr, L. M. 2003.** The phosphoketolase from *Bifidobacterium lactis*: Biochemistry, genetics, and phylogeny. Eidgenössische Technische Hochschule Zuerich (Switzerland), 119 pp.
- Ross, R.P., Stanton, C., Hill, C., Fitzgerald, G.F., Coffey, A. 2000.** Biotechnological approaches for cheese improvement using novel starters and enzymes. *Trends in Food Science*, 11: 96-104.
- Rossi, M., Corradini, C., Amaretti, A., Nicolini, M., Pompei, A. Zanoni, S., Matteuzzi, D. 2005.** Fermentation of fructooligosaccharides and inulin by *Bifidobacteria*: a comparative study of pure and fecal cultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 6150-6158.
- Roy, C.C., Kien, C.L., Bouthillier, L., Levy, E. 2006.** Short chain fatty acids: Ready for prime time? *Nutrition in Clinical Practice*, 21: 351-366.
- Rummey, C.J., Rowland, I.R. 1992.** *In vivo* and *in vitro* models of the human colonic flora. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 31: 299-331.
- Rycroft, C.E., Jones, M.R., Gibson, G.R., Rastall, R.A. 2001a.** A comparative *in vitro* evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides. *Journal of Applied Microbiology*, 91: 878-887.
- Rycroft, C.E., Jones, M.R., Gibson, G.R., Rastall, R.A. 2001b.** Fermentation properties of gentio-oligosaccharides. *Letters in Applied Microbiology*, 32: 156-161.
- Rycroft, C.E., Jones, M.R., Gibson, G.R., Rastall, R.A. 2008.** A Comparative *in vitro* evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides. *Journal of Applied Microbiology*, 91: 878-87.
- Salminen, S., Ouwehand, A., Salminen, E. 2002.** Method for screening probiotic strains of the genus *Bifidobacterium*. *World Patent WO*, 02/38798.
- Salminen, S., Deighton, M.A., Benno, Y., Gorbach, S.L. 1998.** Lactic acid bacteria in health and disease: Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. Ed: Salminen S., Von Wright, A. New York: Marcel Dekker, 211-254s.

- Salvini, F., Granieri, L., Gemmellaro, L. 2004.** Probiotics, prebiotics and child health: Where are we going? *Journal of Interntational Medical Research*, 32: 97-108.
- Sanchez, R.R., Sattur, P.A., Thomas, K., Pandiella, S.S. 2008.** Evaluation of *Bifidobacterium* spp. for the production of a potentially probiotic malt-based beverage. *Process Biochemistry*. 43: 848-854.
- Sandal, G. 2009.** Doğu Akdeniz bölgesi'nde yetişen orkideler ve yetiştirme ortamı nitelikleri ile tehdit faktörlerinin araştırılması. *Doktora Tezi*. ÇÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Sanders, M.E. 1999.** Bringing a probiotic-containing functional food to the market: Microbiological, product, regulatory and labeling issues. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76: 293-315.
- Sanders, M.E. 2003.** Probiotics: considerations for human health. *Nutrition Reviews*, 61: 91-99.
- Sarkar, S. 2007.** Potential of prebiotics as functional foods. *Nutrition & Food Science*, 373: 168-177.
- Scardaovi, V. 1986.** Genus *Bifidobacterium*: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Ed: Sneath P., Mair N., Sharpe E., Holt J.G., Williams, Wilkins, New York, 1418-34.
- Schell; Mark, A. 2002.** The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation to the human gastrointestinal tract. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99: 14422-14427
- Scholtens, P., Alles, M.S., Bindels, J.G. 2006.** Bifidogenic effects of solid weaning foods with added prebiotic oligosaccherides: Randomized controlled clinical trial. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 42: 553-9.
- Segain, J.P., Raingeard De La Bletiere, D., Bourreille, A., Leray, V., Gervois, N., Rosales, C., Ferrier, L., Bonnet, C., Blottiere, H.M., Galmiche, J.P. 2000.** Butyrate inhibits inflammatory responses through NF kappa B inhibition: implications for Crohn's disease. *Gut*, 47: 397-403.
- Sezen, G.A. 2013.** Prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotiklerin insan ve hayvan sağlığı üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8: 248-258.
- Sezik, E. 1984.** Orkidelerimiz Türkiye'nin orkideleri. Sandoz Kültür Yayınları No:6 Güzel Sanatlar Matbaası A.Ş., İstanbul.
- Sezik, E. 2002.** Turkish *Orchids* and salep. *Acta Pharmaceutica Turcica*, 44: 151-157.
- Sezik, E., Özer, B. 1983.** Kastamonu salebinin menşei ve Kastamonu civarının orkideleri. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu. Proje No: TBAG-424. Ankara.
- Shah, N.P. 2001.** Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technology*, 55: 46-53.
- Shin, H.S., Lee H., Pestka, J.J., Ustunol, Z. 2000.** Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp. in skim milk containing oligosaccharides and inulin. *Journal of Food Science*, 65: 884-887.

- Shoaf, K., Mulvey, L.G., Armstrong, G.D., Hutkins, R.W. 2006.** Prebiotic galactooligosaccharides reduce adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to Tissue Culture Cells. *Infection And Immunity*, 74: 6920-6928.
- Shortt, C. 1999.** The probiotic century: Historical and current perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 411-417.
- Singh, K., Kallali, B., Kumar, A., Thaker, V. 2011.** Probiotics: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1: 287-290.
- Smith, J.G. 1995.** Molecular and genetic effects of dietary derived butyric acid. *Food Technology*, 49: 87-90.
- Spring, P. 1998.** The effect of age and environment on the avian gastrointestinal microflora and its role in the development of competitive exclusion products. *Feed Compounder*, 18: 16-20.
- Su, P., Henriksson, A., Mitchell, H. 2007.** Selected prebiotics support the growth of probiotic mono-cultures *in vitro*. *Food Microbiology*, 13: 134-139.
- Synytysya, A., Mickova, K., Synytysya, A., Jablonsky, I., Spevacek, J., ERban, V., Kovarikova, E., Copikova J. 2009.** Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydrate Polymers*, 76: 548-556.
- Tamime, A.Y., Marshall, V.M.E., Robinson, R.K. 1995.** Microbiological and technological aspects of milks fermented by *Bifidobacteria*. *Journal of Dairy Research*, 62: 151-187.
- Tanriseven, A, Doğan, S. 2002.** Production of isomaltooligosaccharides using dextransucrase immobilized in alginate fibres. *Process Biochemistry*, 37: 111-115.
- Tekinşen, K., Güner, A. 2010.** Chemical composition and physicochemical properties of tubera salep produced from some *Orchidaceae* species. *Food Chemistry*, 121: 468-471.
- Telcioğlu, A. 2006.** Farklı tatlandırıcı ve süt tiplerinin düşük kalorili salep içeceğinin reolojik özelliklerine etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Tester, F. R., Al-Ghazzewi H.F. 2012.** Mannans and health, with a special focus on glucomannans. *Food Research International*, 50: 384-391.
- Thuaytong, W., Anprung, P. 2011.** Bioactive compounds and prebiotic activity in thailand-grown red and white guava fruit (*Psidium guajava L.*). *International Journal of Food Science and Technology*, 17: 205-212.
- Timmerman, H.M., Koning, C.J., Mulder, L., Rombouts F.M., Beynen, A.C. 2004.** Monostrain, multistain and multispecies probiotics - a comparison of functionality and efficacy. *International Journal of Food Microbiology*, 96: 219-233.
- Tok, E., Ashm, B. 2007.** Probiyotik olarak kullanılan bazı laktik asit bakterilerinin kolesterol asimilasyonu ve safra tuzları dekonjugasyonundaki rolleri. *Türk Mikrobiyoloji Cem Dergisi*, 37: 62-68.
- Tokunağa, T. 2004.** Novel physiological function of fructooligosaccharides. *Bio Factors*, 21: 89-94.

- Topçuoğlu, B., Kasap, Y., Alparslan, M., Yalçın, R. 1996.** Kahramanmaraş yöresinde doğal florada yetişen salep bitkisinin bazı bitki besin maddesi içerikleri ile salep bitkisinin yetiştiği toprakların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 2: 7-10.
- Topping, D.L., Clifton, P.M. 2001.** Short chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistance starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews.*, 81: 1031-64.
- Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Robaina, L., Real, F. 2007.** Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. *Fish Shellfish Immunology.*, 23: 969-81.
- Tunç, M.A. 2007.** Humatların Koyunlarda rumen parametreleri ve bazı kan değerleri üzerine etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Atatürk Üni., Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum.
- Tzortzis, G., Goulas, K.A., Gibson, R.G. 2005.** Synthesis of prebiotic galactooligosaccharides using whole cells of a novel strain, *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 41171. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68: 412-416.
- 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.
- Veereman, G. 2007.** Pediatric applications of inulin and oligofructose. *Journal of Nutrition*, 137: 2585- 2589.
- Vuksan, V., Sievenpiper, J.L., Xu, Z., Wang, E.Y., Jenkins, A.L., Beljan-Zdravkovic, U. 2001.** Konjac mannan and American ginseng: Emerging alternative therapies for type-2 diabetes mellitus. *Journal of American College of Nutrition*, 20: 370-80.
- Vuksan, V., Sievenpiper, J.L., Owen, R., Swilley, J.A., Spadafora, P., Jenkins, D.J., Vidgen, E., Brighenti, F., Josse, R.G., Leiter, L.A., Xu, Z., Novokmet, R. 2000.** Beneficial effects of viscous dietary fiber from konjac-mannan in subjects with the insulin resistance syndrome, results of a controlled metabolic trial. *Diabetes Care*, 23: 9-14.
- Vulevic, J., Rastall, A.R., Gibson, G.R. 2004.** Developing a quantitative approach for determining the *in vitro* prebiotic of dietary oligosaccharides. *FEMS Microbiology Letters*, 236: 153-159.
- Wang, X., Gibson, G.R. 1993.** Effects of the *in vitro* fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *Journal of Applied Bacteriology*, 75: 373-80.
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Wang, C. 2010.** *In vitro* fermentation of xylooligosaccharides from wheat bran insoluble dietary fiber by *Bifidobacteria*. *Carbohydrate Polymers*, 82: 419-423.
- Williams, C.H., Witherly, S.A., Buddington, R.K. 1994.** Influence of dietary neo sugar on selected bacterial groups of the human faecal microbiota. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 7: 91-97.

- Wong, J.M.W., de Souza, R., Kendall, C.W.C., Emam, A. Jenkins, D.J.A. 2006.** Colonic health: Fermentation and short chain fatty acids. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 40: 235-43.
- Wu, J., Peng, S. 1997.** Comparison of hypolipidemic effect of refined konjac meal with several common dietary fibers and their mechanisms of action. *Biomedical and Environmental Sciences*, 10: 27-37.
- Wu, G., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y., Keilbaugh, S. 2011.** Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, 334: 105-108.
- Yağcı, R. 2002.** Prebiyotikler ve probiyotikler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 45: 337-344.
- Yalçın, S., Yurdakök, K. 2000.** Gastrointestinal sistem hastalıklarında probiyotik kullanımı. *Katkı Pediatri Dergisi*, 21: 122-138.
- Yang, L., Lin, W., Lu, T. 2012.** Characterization and prebiotic activity of aqueous extract and indigestible polysaccharide from *Anoectochilus formosanus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 8590-8599.
- Yaşar, B., Kurdaş, O.Ö. 2009.** Probiyotikler ve gastrointestinal sistem, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Gastroenterohepatoloji Kliniği, İstanbul, 13: 23-28.
- Yerlikaya, O., Karagözlü, C. 2009.** Prebiyotik ürünler ve insan sağlığına etkileri. *Akademik Gıda*, 7: 51-55.
- Yeşilova, Y., Sula, B., Yavuz, E. Uçmak, D. 2010.** Probiyotikler. *J. Kartal TR Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 21: 49-56.
- Young, R.J., Huffman, S. 2003.** Probiotic use in children. *Journal of Pediatric Health Care*, 17: 277-283.
- Yun, J.W. 1996.** Fructooligosaccharides-occurrence, preparation and application. *Enzyme and Microbial Technology*, 19: 107-117.
- Zentek, J., Hall, E.J., German, A., Haverson, K., Bailey, M., Rolfe, V., Butterwick, R., Day, M.J. 2002.** Morphology and immunopathology. of the small and large intestine in dogs with nonspecific dietary sensitivity. *Journal of Nutrition*, 132: 1652-4
- Zhang, M.Y., Huang, C.Y., Wang, X., Hong, J.R., Peng, S.S. 1990.** The effect of foods containing refined konjac meal on human lipid metabolism. *Biomedical and Environmental Sciences*, 3: 99-105.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Buse USTA

Doğum Yeri ve Tarihi : Taşköprü / 08.08.1989

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Taşköprü Anadolu Lisesi (2003-2007)

Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi (2007-2011)

Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi (2012-)

İletişim : buseusta_89@hotmail.com

Prebiyotik Etkinin Değerlendirilmesinde Nicel Yaklaşımlar

Buse USTA/ Lütfiye YILMAZ ERSAN / Tülay ÖZCAN 28-30.04.2015 /Bildiri

II.İç Anadolu Tarım ve Gıda Kongresi Nevşehir /TÜRKİYE

Sütün Antioksidan Enzimleri ve Biyolojik Etkileri /Antioxidant Enzymes of Milk and Their Biological Effects

Buse USTA / Lütfiye YILMAZ-ERSAN 18.11.2013/ Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2013, Cilt 27, Sayı 2, 123-130

Functional Properties of Salep Beverage

Buse USTA / Lütfiye YILMAZ-ERSAN 24.10.2013 / Bildiri

The 2nd International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus Ohrid/MACEDONIA

Bazı *Bifidobacterium* Türleri Tarafından Salep Tozunun *In Vitro* Fermentasyonu

Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeller Birimi KUAP (Z) 2013/50 Projesi / Yardımcı Araştırmacı (Proje Yürütücüsü: Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN)