

**FONKSİYONEL FERMENTE PEYNİRALTI SUYU İÇECEĞİ ÜRETİMİ
ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

EMİNE SEYHAN

**ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALINDA
YÜKSEK LİSANS
DERECESİ İÇİN GEREKLİ ÇALIŞMALARI YERİNE GETİREREK
ONAYA SUNULAN TEZ**

NİSAN 2012

Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Onayı

Prof. Dr. Nihat ÇELEBİ
Enstitü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans derecesinde bir tez olarak gerekli çalışmaları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Barbaros ÖZER
Anabilim Dalı Başkanı

Okuduğumuz bu tezin Yüksek Lisans derecesinde bir tez olarak onaylanması, düşüncemize göre, amaç ve kalite olarak tamamen uygundur.

Prof. Dr. Barbaros ÖZER
Tez Danışmanı

Jüri Üyeleri

1- -----

2- -----

3- -----

ABSTRACT

A STUDY ON THE FUNCTIONAL FERMENTED WHEY-BASED BEVERAGE PRODUCTION

Seyhan, Emine

M.Sc., Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Barbaros Özer

April 2012, xiv+66 pages

In this study, it was aimed to develop a functional whey-based fermented beverage. In this context, a reconstituted whey beverage was prepared by incorporating two different nutraceutical compounds (soy isoflavone and phytosterol) and two different probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Lactobacillus casei*- Lbc-81). In the preliminary trials, the level of stabilizer and the rate of demineralization in whey powder were decided. Whether or not, the use of prebiotic components was also decided after the preliminary tests. The samples were stored at 4 °C for 28 days and were taken into analysis with 7-day intervals. During the storage period, the microbiological, chemical, physical and sensory characteristics of fermented whey beverages were analyzed. According to the data obtained, demineralization and addition of sugar and/or prebiotic components (inulin or fructooligosaccharides) had neither positive nor negative effect on the growth of probiotic bacteria throughout storage. Furthermore, the addition of sugar and functional compounds did not change the basic composition of the products. However, a time-dependent increase on sedimentation/phase separation and acidity of fermented functional beverages was observed. According to sensory evaluations, phytosterol added samples were more preferred by the panel group than the samples supplemented with isoflavone, and no considerable differences were noted between the control sample and the samples supplemented with phytosteol.

Key words: Whey beverage, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, phytosterol, soy isoflavone, functional beverage

ÖZET

FONKSİYONEL FERMENTE PEYNİRALTI SUYU İÇECEĞİ ÜRETİMİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Seyhan, Emine

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Barbaros Özer

Nisan 2012, xiv+66 sayfa

Bu araştırmada, demineralize edilmemiş, %50 oranında demineralize ve %70 oranında demineralize rekonstitüe peyniraltı suyunun soya izoflavon ve bitkisel sterol ile katkılandırılarak ve probiyotik bakteriler (*Lb. acidophilus* ve *Lb. casei*) ile inoküle edilerek fermente fonksiyonel gazsız bir içecek haline dönüştürülmesi amaçlanmıştır. Ön denemeler kapsamında stabilizatör düzeyi ile peyniraltı suyu tozunda demineralizasyon düzeyine karar verilmiştir. Ayrıca prebiyotik olarak ,inulin ya da fruktooligosakkarit (FOS) kullanımının gerekli olup olmadığı da ön denemeler kapsamında değerlendirilmiştir. Deneme örnekleri 4 °C’de 28 gün süre ile depolanmış ve depolama sürecinin 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerinde fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikler bakımından analiz edilmiştir. Elde edilen araştırma sonuçlarına göre, probiyotik bakteri sayılarındaki değişim dikkate alındığında demineralizasyon işleminin, şeker ilavesinin ve probiyotik madde (inülin ve fruktooligosakkarit) katkısının depolama süresi boyunca olumlu ya da olumsuz bir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Şeker ve fonksiyonel bileşen ilavesinin ürünlerin temel bileşim özellikleri üzerine etkisi olmamıştır. Buna karşın; izoflavon ve fitosterol ilave edilen içeceklerde zamana bağlı sedimentasyon ve/veya faz ayrılması ile asitlik değerlerinde artış meydana gelmiştir. Duyusal değerlendirmelerde soya kökenli izoflavon katkılı örnekler daha az beğenilirken, fitosterol katkılı örnekler ile kontrol örneği birbirine yakın bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Peyniraltı suyu içeceği, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, bitkisel sterol, soya izoflavon, fonksiyonel içecek.

Aileme

TEŞEKKÜR

Tez konumun seçiminden araştırmanın planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesi aşamalarına kadar her türlü yardım ve desteğini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım çok değerli ve saygıdeğer hocam Prof. Dr. Barbaros ÖZER'e özellikle teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam boyunca bana her konuda destek veren ve yardımcı olan sayın Uzman Hülya YAMAN'a teşekkür ederim.

Son olarak desteğini her zaman yanımda hissettiğim eşim Fethi SEYHAN'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa No
ABSTRACT.....	iii
ÖZET.....	iv
İTHAF.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	5
2.1. Probiyotik Bakterilerin Yararları ve Etki Mekanizması.....	5
2.2. Fonksiyonel Gıda Kavramı.....	7
2.3. Fonksiyonel İçeceklerin Etki Mekanizması ve Önemi.....	10
2.4. Fonksiyonel Fermente Peyniraltı Suyu İçeceği.....	16
2.5. İzoflavon ve Sterolün Sağlık Üzerine Etkileri.....	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. Materyal.....	20
3.1.1. Peyniraltı Suyu Tozu.....	20
3.1.2. Starter Kültürler.....	21
3.1.3. Fonksiyonel Bileşenler.....	21
3.1.4. Kimyasal Malzemeler.....	21
3.2. Yöntem.....	22
3.2.1. Peyniraltı Suyu İçeceği Üretimi.....	22
3.2.1.1. Ön Denemeler.....	22
3.2.2. Kimyasal Analizler.....	23

3.2.3. Mikrobiyolojik Analizler.....	23
3.2.4. Fiziksel Analizler.....	26
3.2.5. Duyusal Analizler.....	26
3.2.6. İstatistiksel Analizler.....	28
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	29
4.1. Ön Denemeler.....	29
4.1.1. Stabilizatör Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	29
4.1.2. Prebiyotik Madde Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	33
4.2. İzoflavon ve Bitkisel Sterol İlavesinin Fonksiyonel Fermente Peyniraltı Suyu İçeceklerinin Temel Niteliklerine Etkisi.....	43
4.2.1. Kimyasal Kompozisyona Etkisi.....	43
4.2.2. Probiyotik Bakteri Gelişimine Etkileri.....	46
4.2.3. Sedimentasyon Oluşumu Üzerine Etkileri.....	49
4.2.4. Duyusal Özellikler Üzerine Etkisi.....	53
5. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME.....	57
KAYNAKLAR.....	59

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE	: Angiotensin converting enzyme
ALA	: Alpha linoleic acid
APHA	: American Public Health Association
BCG	: Bromocresol green
BT	: Backscattering
Cfu	: Colony-forming units
CLA	: Conjugated linoleic acid
CMP	: Caseinomacropetides
CPPs	: Caseinophosphopeptides
ΔBST	: Delta-backscattering
DF	: Diafiltration
DHA	: Docosahexaenoic acid
DNA	: Deoxyribonucleic acid
EFSA	: European Food Safety Association
EPA	: Eicosapentaenoic acid
EU	: European Union
FAO	: Food and Agriculture Organization
FDA	: Food and Drug Administration
FOS	: Fructooligosaccharides
IPP	: Isoleusine-proline-proline
LDL	: Low density lipoprotein
LSD	: Least Significance Difference Test
MRS	: De Man, Rogosa and Sharpe
NIR	: Near Infrared Reflectance
R-PAS	: Reconstituted cheese whey
SPSS	: Statistical Programes for Social Science

T	: Transmission
UF	: Ultrafiltration
UHT	: Ultra high temperature
VPP	: Valine-proline-proline
w/v	: Weight <i>per</i> volume
WPC	: Whey protein concentrate

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan demineralize peyniraltı suyu tozlarının kimyasal kompozisyonu (üretici firma bilgilerini içermektedir).....	20
Çizelge 4.1. Şeker ve fonksiyonel bileşen katkısı içermeyen prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerine ait kimyasal bileşim değerleri.....	34
Çizelge 4.2. Fonksiyonel bileşen katkısı içermeyen şeker (%5, w/v) katkılı prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerine ait kimyasal bileşim değerleri.....	35
Çizelge 4.3. Şeker ilave edilmiş ve fonksiyonel bileşen katkısı içeren prebiyotik peyniraltı suyu içeceklerine ait kimyasal bileşim değerleri	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
	No
Şekil 2.1. Fonksiyonel süt bazlı içeceklerin sınıflandırılması.....	9
Şekil 3.1. Fonksiyonel peyniraltı suyu içeceği üretim akış şeması.....	24
Şekil 3.2. <i>Lb. acidophilus</i> La-5 ve <i>Lb. Casei</i> Lbc-81'in nin BCG-Trehalose-MRS agar üzerindeki tipik görünüşleri.....	25
Şekil 3.3. Deneme örneklerinin duyuusal değerlendirmelerinde kullanılan form.....	27
Şekil 4.1. 13 farklı konsantrasyonda stabilizatör ilave edilen peyniraltı suyu örneklerinde 1 haftalık depolama sonucunda sedimentasyon ve faz ayrılmasının görsel değerlendirmesi.....	30
Şekil 4.2. Farklı stabilizer düzeylerinin fermente probiyotik peyniraltı suyu içeceğinde sedimentasyon hızı üzerine etkisi	31
Şekil 4.3. Farklı oranlarda stabilizatör içeren peyniraltı suyu içeceğine ait sedimentasyon tarama grafikleri	32
Şekil 4.4. Fonksiyonel bileşen katkısı içermeyen şeker ilavesiz prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerine ait titrasyon asitliği değerleri değişimi	37
Şekil 4.5. Fonksiyonel bileşen katkısı içermeyen %5 (w/v) oranında şeker ilaveli prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerine ait titrasyon asitliği değerleri değişimi.....	37

Şekil 4.6.	Fonksiyonel bileşen içermeyen şeker ilavesiz prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinin pH değerlerinde depolama süresi boyunca meydana gelen değişim.....	38
Şekil 4.7.	Fonksiyonel bileşen içermeyen şeker ilaveli prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinin pH değerlerinde depolama süresi boyunca meydana gelen değişim.....	39
Şekil 4.8.	Fonksiyonel bileşen içermeyen şeker ilavesiz prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinin <i>Lb. acidophilus</i> La-5 koloni sayılarında depolama süresi boyunca meydana gelen değişim.....	39
Şekil 4.9.	Fonksiyonel bileşen içermeyen şeker ilaveli prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinin <i>Lb. acidophilus</i> La-5 koloni sayılarında depolama süresi boyunca meydana gelen değişim.....	41
Şekil 4.10.	Fonksiyonel bileşen içermeyen şeker ilavesiz prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinde <i>Lb. casei</i> Lbc-81 koloni sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler.....	42
Şekil 4.11.	Fonksiyonel bileşen içermeyen şeker ilaveli prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinde <i>Lb. casei</i> Lbc-81 koloni sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler.....	43
Şekil 4.12.	Şeker ilave edilmiş ve fonksiyonel bileşen katkısı içeren prebiyotik peyniraltı suyu içeceklerine ait titrasyon asitliği değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler.....	45
Şekil 4.13.	Şeker ilave edilmiş ve fonksiyonel bileşen katkısı içeren prebiyotik peyniraltı suyu içeceklerinin pH değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler.....	46

Şekil 4.14. Fonksiyonel bileşen ve şeker ilaveli probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinde <i>Lb. acidophilus</i> La-5 koloni sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler	47
Şekil 4.15. Fonksiyonel bileşen ve şeker ilaveli probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinde <i>Lb. casei</i> Lbc-81 koloni sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler.....	48
Şekil 4.16. Değişen oranlarda soya-izoflavon katkılı fermente probiyotik peyniraltı suyu içeceğinde sedimentasyon hızı değişimi.....	51
Şekil 4.17. Soya-izoflavon katkılı fermente probiyotik peyniraltı suyu içeceğinde sedimentasyon tarama grafikleri	52
Şekil 4.18. Değişen oranlarda fitosterol katkılı fermente probiyotik peyniraltı suyu içeceğinde sedimentasyon hızı değişimi.....	53
Şekil 4.19. Fitosterol katkılı fermente probiyotik peyniraltı suyu içeceğinde sedimentasyon tarama grafikleri	54
Şekil 4.20. Depolama sürecinin başlangıcında deneme örneklerine ait duyuşal değerlendirme sonuçları.....	55
Şekil 4.21. Depolama sürecinin sonunda deneme örneklerine ait duyuşal değerlendirme sonuçları.....	56

BÖLÜM I

1. GİRİŞ

Peyniraltı suyu peynir üretiminin bir yan ürünü olarak tanımlanmaktadır (Tripathi ve Jha, 2004). Peyniraltı suyunun kimyasal kompozisyonu ve karakteristik özellikleri üretim teknolojisi ile yakından ilişkilidir. Peyniraltı suyu yaklaşık %93 dolayında su içerirken, sütün toplam kurumaddesinin yaklaşık %50'sini barındırmaktadır. Peyniraltı suyunun kurumadde bileşenleri içerisinde laktoz en yüksek konsantrasyona sahip bileşen konumunda iken serum proteinleri, suda çözünen vitaminler ve mineraller de yer almaktadır (Jelicic ve ark., 2008).

Peyniraltı suyunun beslenme ve tekno-fonksiyonel özellikleri üzerine çalışmalar uzun yıllardır süregelmektedir. Bu çalışmalar sonucunda laktoferrin, laktoperoksidaz, immünoglobulinler, gelişim faktörleri gibi yüksek beslenme değerine ve fonksiyonel özelliğe sahip bileşenler açısından da peyniraltı suyunun zengin olduğu belirlenmiştir (Jelen, 2009).

Bu gerekçeler ile peynir üretiminin bir atığı olarak değerlendirilen peyniraltı suyunun, çok değerli bir fonksiyonel ürün haline dönüştürülmesine yönelik çabalar hız kazanmıştır. Bugüne kadar, çok sayıda peyniraltı suyu bazlı içecek ticari forma

dönüştürölüp fonksiyonel gıdalar pazarına sunulmuştur. Peyniraltı suyu kökenli fonksiyonel içecekler 3 grup altında toplanmaktadır:

- 1- Süt bazlı içecekler (dairy-type)
- 2- Susuzluk giderici içecekler (thirst-quenching)
- 3- Meyve suyu bazlı içecekler (fruit-juice type)

Süt bazlı peyniraltı suyu içecekleri sıvı peyniraltı suyu konsantratının fermentasyonu ya da süt veya süt ürünlerinin peyniraltı suyu konsantratı/serum proteini izolatu ile zenginleştirilmesi temeline dayanmaktadır (Peter ve ark., 1996). Peyniraltı suyu içeceği üretimine yönelik en belirgin sorun çözünmemiş serum proteinlerinin zamana bağılı sedimentasyonudur. Yüksek sıcaklıklarda ısıtıl işlem uygulaması proteinlerde sedimentasyon sorunlarına yol açmaktadır. Bu sorun, nötral pH dolayında ısıtıl işlem uygulanmış fermente olmamış peyniraltı suyu üretiminde fazla önem taşımamaktadır. Bu nedenle, peyniraltı suyu içeceği üretiminde tatlı peyniraltı suyu kullanımı önerilmektedir (Britten ve Giroux, 2001).

Son yıllarda, insan sağlığı ile gıda tüketimi arasındaki ilişki yeni bir boyut kazanmıştır (Holm, 2001). Özellikle, nutrasötik olarak adlandırılan insan sağlığını geliştirici doğal gıda bileşenlerinin popülaritesi artmıştır. Nutrasötik bileşikler içerisinde, insan bünyesi tarafından üretilmeyen α -linoleik asit gibi omega-3 yağ asitleri ticari üretimlerde ilk kullanılan bileşik olma özelliğı taşımaktadır. Buna karşın, izoflavonların ticari üretimlerde kullanımı nispeten daha yenidir (Mason, 2001).

İzoflavonların değişik kanser türleri ve osteoporoz gibi rahatsızlıklar ile menopo  tedavisinde kullanımı konusunda başarılar elde edilmesine karşın bu bileşiklerin gıdalar aracılığı ile günlük alım dozları konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır (Awaisheh ve ark., 2005). Bununla birlikte; epidemiyolojik çalışmalar peyniraltı suyu içeceklerinin nutrasötik maddelerin v coda alımı konusunda iyi bir aracı olduğunu kanıtlamıştır.

Son yıllara ait istatistiksel veriler fonksiyonel gıda pazarlarında probiyotik ürünlerin payının sürekli arttığını göstermektedir. Heller (2008)'e göre probiyotik gıda ve içecek sektöründe 2007 yılında tüm dünyada 523 yeni ürün pazara sunulmuştur. Benzer şekilde; Latin Amerika'da probiyotik yoğurt pazarı 2005-2007 yılları arasında %32 artmıştır (Crowley, 2008). 2006 ve 2011 yılları arasında probiyotik içecek ve yoğurdun yıllık satış oranında %5 artış olduğu tahmin edilmektedir (Anonymous, 2007). 2004 yılında ABD'de taze probiyotik süt bazlı ürünlerin satış gelişme oranı peynirden daha yüksek gerçekleşmiştir (%2'ye karşılık %9-10) (Fletcher, 2006). Avrupa'daki probiyotik gıda ve içecek marketlerinde 2013'e kadar 163 milyon ABD doları artış olacağı tahmin edilmektedir (Champagne, 2009).

Hem probiyotik bakterilerin hem de nutrasötik bileşenlerin fermente peyniraltı suyu i eceeği üretiminde birlikte kullanımı terapatik/fonksiyonel potansiyeli artıracadından sağlık üzerinde olumlu etkiler yaratacağı açıktır. Bu tarz ürünler ülkemiz süt ürünleri pazarında yeterince yer almamaktadır.

Bu çalışma kapsamında;

- Farklı nutrasötik bileşenlerin (soya izoflavon ve bitkisel sterol) probiyotik bakteri (*Lb. acidophilus* La-5 ve *Lb. casei* Lbc-81) gelişimi üzerine etkileri,
- Nutrasötik bileşenlerin optimum kullanım konsantrasyonlarının belirlenmesi,
- Son ürünün depolama süresi boyunca kalite özelliklerinde meydana gelen değişimlerin izlenmesi amaçlanmıştır.

Ayrıca,

- Prebiyotik bileşenlerin (FOS ve inülin) ve şeker ilavesinin (%5 w/v) probiyotik bakteri gelişimi üzerine etkileri ile,
- Stabilizatör katkısının sedimentasyon oluşumu üzerine etkilerinin araştırılması da hedeflenmiştir.

BÖLÜM II

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Probiyotik Bakterilerin Yararları ve Etki Mekanizması

Probiyotik, konakçı hücrede sağlığa faydalı etki gösteren canlı organizmalar olarak tanımlanmaktadır (FAO, 2001). Süt ve süt bazlı gıdalar probiyotik bakteriler için çok uygun birer gelişim ortamı konumundadır. Gıda ürünleri aracılığı ile probiyotik bakteri tüketiminin bağırsak mikroflorasını dengelemenin en uygun yolu olduğu belirlenmiştir (Hattingh ve Viljoen, 2001). Bilimsel bulgular probiyotiklerin laktoz intoleransı semptomlarının hafifletmesi, kolesterolü düşürmesi, antibiyotik kullanımına bağlı diyareyi iyileştirmesi, sindirim yolu enfeksiyonları ve kolon kanserini engellemesi, rotavirüsü kontrol etmesi, *Helicobacter pylori*'ye bağlı ülseri engellemesi, bağışıklık sistemini, irritabl bağırsak sendromunu ve antihipertansif etkileri iyileştirmesi gibi olumlu etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur (Reid ve ark., 2003; O'May ve Macfarlane, 2005).

Bir probiyotik gıdanın terapatik etkinlik gösterebilmesi için tüketim anında içermesi gereken minimum probiyotik bakteri sayısı en az 10^6 - 10^7 kob/mL ya da g'dir (IDF, 1992). Fermente sütlerde probiyotik bakterilerin canlı kalabilme yeteneği sütün asitlik, pH, çözünabilir O₂ içeriği, redoks potansiyeli ve hidrojen peroksit

konsantrasyonuna bağlıdır. Çözünebilir O₂ içeriği ve asitliğin bifidobakterilerin gelişimi için temel etkenler olduğu belirlenmiştir (Dave ve Shah, 1997). Fermente biyo-ürünlerin soğuk depolanması sırasında canlılığını koruyabilen probiyotik hücre sayısı çoğunlukla minimum terapötik seviyenin ($\sim 10^7$ kob/mL ya da g) altına düşmektedir (Rybka, 1994). Sütte çözünür O₂ seviyesinin azaltılabilmesi için değişik yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemler; sütün elektrokimyasal redüksiyonu, havanın ayrılması veya sistein gibi indirgen madde ilavesini içermektedir (Bolduc ve ark., 2006). Ayrıca, probiyotik bakterilerin mikrokapsülasyonu, oksijen geçirgenliği azaltılmış ambalaj materyali seçimi, oksijen ve asite karşı dirençli suşların geliştirilmesi veya lize kültür kullanımı da O₂'ye karşı direnci artırıcı yöntemler arasında yer almaktadır. Probiyotik bakteriler (özellikle bifidobakteriler) zayıf proteolitik yeteneğe sahip olduğundan sütte gelişmeleri için belirli bileşenlerin (gelişim destekleyicileri) varlığına gereksinim duyarlar (Kailasapathy ve Rybka, 1997; Gomes ve Malcata, 1999; Østlie ve ark., 2003; Roy, 2005). Prebiyotik olarak da adlandırılan probiyotik gelişim destekleyicileri arasında fruktooligosakkaritler (FOS), kazeinomakropeptidler (CMPs), serum proteini konsantratu (WPC), tripton, maya ekstraktı, bazı aminoasitler, nükleotidler ve demir yer almaktadır (Elli ve ark., 1999; Shin ve ark., 2000; Østlie ve ark., 2003; Janer ve ark., 2004; Stephenie ve ark., 2007). Üretim şartlarının optimizasyonu ve probiyotik suş seçimi (formülasyon özellikleri ve depolama koşulları) fermente sütlerde probiyotik bakterinin yaşayabilmesi için son derece önemlidir (Martinez-Villaluenga ve ark., 2006).

Hem fonksiyonel süt bazlı içecekler hem de probiyotik süt bazlı içecekler alkolsüz içecek sınıfında pazar paylarını giderek arttırmaktadır. Son yıllarda meyve suyu bazlı probiyotik içecekler, tahıl ürünleri ve günlük doz süt bazlı içeceklerin

pazar paylarında ciddi artışlar meydana gelmiştir (Halliwell, 2002; Hilliam, 2004). *Lactobacillus rhamnosus* GG süt bazlı probiyotik içeceklerin üretiminde en yaygın kullanılan bakteri konumundadır. *Lactobacillus rhamnosus* GG, asidik insan sindirim sistemindeki mukozal hücrelerde daha iyi gelişmekte ve laktik asit üretmektedir. Asit ve tuza direnci sebebiyle probiyotik laktobasiller endüstriyel uygulamalar için elverişlidir.

2.2. Fonksiyonel Gıda Kavramı

Fonksiyonel gıdalar veya fonksiyonel gıda bileşenleri bilimsel olarak temel besin değerlerinin ötesinde fizyolojik faydalarıyla tanımlanmaktadır (Gibson ve Williams, 2000). Fonksiyonel gıdalar nutrasötikler olarak da bilinmektedir ve genetik modifiye gıdaları da kapsamaktadır. Büyüyen tüketici portföyünde, fonksiyonel gıda pazarının başarısının arkasındaki temel neden besleyici ve sağlığı geliştirici özelliklerinin olmasıdır. Kuzey Amerika'daki tüketicilerin %93'den fazlası sağlığa faydalı bazı gıdaların hastalık riskini azalttığını ifade etmektedir (Champagne ve Mollgaard, 2008). Son yıllarda tıbbi harcama maliyetlerinin yüksek oluşu kişileri sağlıklarını korumada daha ucuz yollar aramaya teşvik etmektedir. Popüler medyada tüketici sağlıklı ve besleyici gıdalar arasındaki bağlantının farkına varmalarına yardımcı olmaktadır. Fonksiyonel gıdaların faydalarıyla ilgili bilimsel verilerin yoğun olarak popüler medya aracılığı ile tüketicilerle paylaşıldığı batı toplumlarında yetişkin popülasyonlar fonksiyonel gıda pazarının hızla gelişme göstermesine katkı yapmaktadır. Güvenilir gıda ürünleri, tüketici ihtiyaçlarını karşılamanın yanı sıra inovasyona da uygunluk göstermektedir (Richardson, 1996). Gıda ve içecek endüstrisinde teknolojinin hızla gelişmesiyle birlikte marketlerde satılan ürün

çeşitliliği de artmaktadır. Fonksiyonel gıda pazarının 2005 yılında dünyadaki büyüklüğü 16 milyar ABD dolarına ulaşmıştır (Leatherhead Food International, 2006). Fonksiyonel gıdalar arasında süt bazlı fonksiyonel gıdalar yaklaşık %43'lük bir paya sahiptir ve bu ürünlerin hemen hemen tamamını fermente süt ürünleri oluşturmaktadır.

Saxelin ve ark. (2003)'e göre; süt bazlı ürünler üç gruba ayrılmaktadır:

- 1) **Asıl süt ürünleri:** bu kategori klasik süt ürünlerini içerir. Örneğin; yoğurt, dondurma, peynir, tereyağı vb.
- 2) **Katma değeri yüksek ürünler:** bu kategori düşük laktozlu veya laktozsuz ürünleri, süte aşırı duyarlı bebekler için hidrolize proteinli anti-alerjik formülleri, Ca, vitaminler vb. ile zenginleştirilmiş sütleri içerir. Bu ürünler genellikle belirli tüketici grupları tarafından tüketilmektedir ve çoğunlukla fonksiyonel gıda kategorisinde bulunmamaktadır. Günümüzde vitamin ve minerallerle zenginleştirilen süt ürünlerinin fonksiyonel gıda kategorisine dâhil edilmesi tartışılmaktadır.
- 3) **Fonksiyonel süt bazlı gıdalar:** bu gruptaki ürünlerin temel besin değerlerinden çok sağlığa faydası üzerinde durulmaktadır. Bu ürünler süt bazlı ve süt bazlı olmayan kaynaklardan meydana getirilerek fonksiyonel gıda bileşenleri ile zenginleştirilmiştir.

Süt bazlı fonksiyonel ürünler (içecekler ve içilemeyen ürünler) omega-3, fitosteroller, izoflavonlar, konjuge linoleik asit (CLA), mineraller ve vitaminler ile zenginleştirilerek üretilmektedir. Günümüzde süt bazlı içecekler tüm dünyada

marketlerde yer almaktadır. Süt bazlı fonksiyonel içecekler yoğurt ve içme sütü kadar olmasa da tüm dünyada süt ürünleri pazarında giderek artan bir paya sahip konumdadır.

Fonksiyonel süt bazlı içecekler iki temel gruba ayrılmıştır (Bkz. Şekil 2.1.):

- 1) **Zenginleştirilmiş süt bazlı içecekler:** Probiyotik, prebiyotik / lif, polifenol, peptid, sterol/stanol, mineral, vitamin ve balık yağı ile zenginleştirme.
- 2) **Peyniraltı suyu temelli içecekler:** Meyve suyu veya süt bazlı bileşenler ile katkılandırma.



Şekil 2.1. Fonksiyonel süt bazlı içeceklerin sınıflandırılması (Özer ve Kırmacı, 2010).

* Probiyotik içeren peyniraltı suyu kaynaklı içecekler,

? Bu grupta sınıflandırılma henüz kesinleşmemiştir.

2.3. Fonksiyonel İçeceklerin Etki Mekanizması ve Önemi

Nutrasötikler arasında yer alan omega-3 yağ asitleri, kardiovasküler hastalıklar ve bazı kanser türlerinin oluşum/gelişim riskini azalttığından fonksiyonel bileşen olarak tanımlanmaktadır. α -linoleik asit (C18:3 n-3, ALA), eykosapentanoik asit (C20:5 n-3, EPA) ve dekosahekzanoik asit (C22:6 n-3, DHA) omega-3 yağ asitlerinin temel üyeleridir. EPA ve DHA doğal olarak balık yağında, ALA ise keten tohumu, çeşitli sebze yağları ve fındıkta bulunur (Gruenwald, 2009). Omega-3 insan vücudunda sentezlenmeyen esansiyel yağ asitidir. EPA ve DHA çocuklarda beyin gelişimi, konsantrasyon, öğrenme kabiliyeti yetişkinlerde ise sağlığın korunması için önemlidir (Milner ve Alison, 1999). Balık yağı omega-3 yağ asitinin bilinen en iyi kaynağıdır ancak ısı ve ışık oksidasyonuna duyarlılığı nedeniyle gıda formülasyonlarında kullanımı üretim sistemi modifikasyonlarını ve üretim ile üretim sonrası süreçte ek önlemlerin alınmasını zorunlu kılmaktadır (Sharma, 2005). Omega-3 yağ asitleri süt ürünlerine ilave edilmeden önce balık tadı ve kokusu giderilmeli, oksidasyon engellenmelidir. ABD'deki yenilikçi fonksiyonel gıda pazarında omega-3 ile zenginleştirilmiş gıdaların büyük yer tuttuğu görülmektedir (Heller, 2008). Omega-3 içeren fonksiyonel gıdaların 2011 yılı tahmini satış değerinin 7 milyar ABD doları dolayında olması beklenmektedir.

İlk ticari omega-3 katkılı süt bazlı ürün Farmer's Best (Arizona, ABD) patenti altında Dairy Farmers (Avustralya) tarafından pazara sunulmuştur. Bu üründe doymuş süt yağı yerine daha sağlıklı olan mono-doymamış omega-3 yağları kullanılmıştır. Avrupa'da ise ilk omega-3 ile zenginleştirilen içme sütü Dawn Dairy (İrlanda) firması tarafından üretilmiştir. Bu üründe Tetra Pak tarafından geliştirilen

dozajlama sistemiyle şişelemeinin son safhasında omega-3 ilavesi gerçekleştirilmektedir. Parmalat (İtalya) süt şirketi 1998’de omega-3 ile zenginleştirilmiş ‘Omega-3 Plus’ (%80 omega-3 içerir) üretimine başlamıştır. Genellikle omega-3 ilaveli sütler A, C ve E vitaminleri ile zenginleştirilmektedir. Tüketicileri cezbetmek için omega-3 ilaveli süt çikolata, aroma bileşenleri vb. ile de tatlandırılmaktadır.

Son on yılda yapılan çalışmalarda, gıdalardan doğal yollarla elde edilen biyoaktif ve biyojenik maddelerden fonksiyonel gıda üretimi üzerine önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Gıda kaynaklı biyoaktif maddeler temel besin maddesi olmanın dışında insan vücudundaki organizmaların aktivitesini düzenlediği için diyet bileşenleri olarak da düşünülmektedir.

Biyoaktif peptidler angiotensin-I’i angiotensin-II’ye dönüştürmede temel rol oynayan enzimi (ACE) inhibe etmekte ve enzimi aktif bölgesinden bloke ederek brydikin’in yıkımını engellemektedir (Pripp ve ark., 2006). Angiotensin-I’in angiotensin-II’ye dönüşümü ve brydikin’inin yıkımı sonucu kan basıncı artmaktadır. ACE inhibisyonu brydikin’in yıkımını engellediğinden kan basıncını düşürmektedir (Gobbetti ve ark., 2004). Bu durum bilimsel olarak kanıtlandıktan sonra çeşitli protein kaynaklarının biyoaktif peptid içeriği araştırılmış ve süt proteinlerinin (özellikle β -laktoglobulin ve kazein fraksiyonları) ACE dönüştürücü enzim inhibitör peptidleri içerdiği bulunmuştur. Ticari olarak gıda üretiminde kullanılan ilk ACE inhibitör peptidler *Lb. helveticus* ve *Saccharomyces cerevisiae*’nin kazeini hidrolize etmesi sonucu oluşan Valin-Prolin-Prolin (VPP) ve İzolösin-Prolin-Prolin (IPP)’dir. Bu tripeptidler Calpis Co. Ltd. (Japonya) firması tarafından ticari antihipertansif süt

ürünleri üretiminde kullanılmaktadır. Biyoaktif peptid ilave edilen diğer ticari süt bazlı ürün ise Valio Ltd. (Finlandiya) tarafından üretilen Evolus ve Evolus çift etkili (Evolus double effect) adlı içecektir. Bu ürün VPP ve IPP'nin yanı sıra kan kolesterol düzeyini düşürücü bitkisel steroller de içermektedir.

Kazeinofosfopeptidler (CPPs) kazeinden elde edilen ve fosfor içeren peptidlerdir. CPPs fosforilizasyon sonucu negatif yükle yüklenirler ve bu sayede kalsiyum, magnezyum ve demir gibi makro elementler ile çinko, baryum, selenyum, kobalt, krom ve nikel gibi mikro elementleri bağlarlar. CPPs bağladığı mikro ve makro elementler sindirim sisteminde çözünebilir özelliktedir ve insan vücudunda bu elementlerin absorpsiyon oranı yüksektir (Oukhatar ve ark., 2002). CPPs üretimi kazeinin enzimatik sindirimine dayanmaktadır. Kazein hidrolizi nötral alkali pH'da (pH 7.0-8.0) gerçekleşmektedir. CPPs'in tespit edilen olumlu fonksiyonel ve metabolik etkileri yanında CPPs içeren gıdaların tüketimine bağlı bir güvenlik riski belirlenmemiştir. CPPs'in endüstriyel olarak gıdalarda kullanımı henüz oldukça yenidir.

Son yıllarda, konjuge linoleik asitin (CLA) anti-oksidatif ve anti-kanserojenik etkisi net olarak ortaya konulmuştur (Donnelly ve ark., 2009). Normal bir günlük diyetle alımı önerilen CLA miktarı 150-400 mg/g'dır. Sütün CLA içeriği ineğin beslenme rejimine göre değişmektedir (Lawson ve ark., 2001). CLA katkılı süt ürünleri içerisinde yoğurt ilk ticarileştirilen ürün konumundadır. Lin (2003) %0.1 seviyesinde linoleik asit ilavesiyle yağsız yoğurdun *cis9-trans11*-CLA içeriğinin arttığını ve bu uygulamanın son ürünün kalite özelliklerini etkilemediğini tespit etmiştir. *cis9-trans11*-CLA lipid peroksidasyonunu azaltmaksızın glutasyon

seviyesini arttırarak hücreleri oksidatif zarardan koruyucu etki göstermektedir (Arab ve ark., 2006). Süt bazlı ürünlerin yağ oranı 0.05 g/100 g (pastörize süt) ile 26.5 g/100 g arasında değişmektedir. Sütün CLA seviyesi ürünün organoleptik özelliklerini bozmaksızın uygun starter kültür kullanımı ile artırılmaktadır. Üretim parametrelerinin (ısıtma ve fermentasyon) CLA seviyesine ve/veya CLA izomerlerine önemli etkisinin olmadığı, mikrodalga ısıtmanın ise sütün CLA seviyesinde %53 oranında azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir (Bisig ve ark., 2007). Boylston ve Beitz (2002) yoğurttta yedi günlük depolamada CLA seviyesinde önemli bir değişim olmadığını belirtmişlerdir. Probiyotik bakteriler (*Lb. rhamnosus* veya *Lb. acidophilus* ile propiyonibakteriler ve bifidobakteriler) ve diğer türler kullanılarak gerçekleştirilen araştırmalarda gelişim ortamında linoleik asit (LA) konsantrasyonunun arttığı saptanmıştır. Xu ve ark. (2005) geleneksel yoğurt kültürü ile birlikte yardımcı kültür (co-culture) olarak *Lb. rhamnosus* kullanılmasıyla fermente sütte CLA içeriğinin arttığını bulmuştur. Lipid kaynağı olarak süte hidrolize soya yağı ilave edildiğinde CLA içeriği on dört günlük depolama sonunda 0.97 mg/g artmaktadır.

Fermente ve fermente olmayan süt bazlı içeceklerin prosesi sırasında oluşan kayıpları karşılamak üzere vitamin ve mineraller ilave edilebilmektedir. Mineral ve vitamin katkılı ürünlerin pazar payı hızla artmaktadır. Süt bazlı içeceklere genellikle kalsiyum, magnezyum ve demir mineralleri ilave edilmektedir.

Yeterli miktarda kalsiyum alımı kalsiyum dengesini ve güçlü kemik yapısını sağlamak için önemlidir. Süt bazlı ürünler fazla miktarda kalsiyum içermektedir ve Amerika Birleşik Devletleri'nde diyet kalsiyumun %70'den fazlası süt ürünlerinden

karşılanmaktadır (Anonymous, 2005). Uzun süredir bilinen yaşa bağlı kemik erimesi ve osteoporoz vücuda düşük miktarda diyet kalsiyum ve yetersiz miktarda D-vitamini alımı sonucu ortaya çıkmaktadır. Yarım yağlı ve yağsız sütler zayıf D-vitamini kaynaklarıdır. Bu vitamin kalsiyum absorpsiyonunun sağlanması için önemlidir ve yarım yağlı ve yağsız sütlerin D-vitamini ile katkılanması gerekmektedir. Kalsiyum inorganik kalsiyum tuzları formunda da süt ve süt bazlı içeceklere ilave edilmektedir. Kalsiyum tuzları proses sırasında sütün pH ve ısı stabilitesinde düşüslere sebep olmaktadır. Bu problem sodyum fosfat ilavesiyle sütün orjinal pH değerine ayarlanması ile çözülebilmektedir (Singh ve ark., 2007). Son yıllarda kalsiyumla zenginleştirilmiş soya sütü Kuzey Amerika'da tüketiciler tarafından ilgi görmektedir. Soya sütü inek sütüne göre daha düşük seviyede kalsiyum içermektedir (200 mg/L ile 1200 mg/L). Soya sütündeki kalsiyum seviyesini artırmak için en pratik yol kalsiyum karbonat ilavesidir. Günümüzde marketlerde kalsiyum karbonatla zenginleştirilmiş soya sütü içecekleri mevcuttur. Zhao ve ark. (2005) kalsiyum karbonat formunda soya sütüne ilave edilen kalsiyum konsantrasyonunun inek sütünün normal kalsiyum seviyesine yakın olduğunu saptamışlardır.

Demir eksikliği anemisi özellikle az gelişmiş ve gelişmiş ülkelerde insan sağlığını olumsuz etkilediğinden kritik besin eksikliklerinden biridir. Demir eksikliği anemisinin tedavisi ve engellenmesinde demir ilaveli gıda tüketimi önemli bir yer tutmaktadır (Silva ve ark., 2008). Fermentasyon sırasında laktik asit ve diğer organik asitlerin birikimi arttığı için demir emilimi de artmaktadır. Bilimsel araştırmalar demir ilave edilen sütlerin sağlığı koruyucu etkisini desteklemektedir; ancak bu konu ile ilgili teknolojik gelişmeler sınırlıdır. Simova ve ark. (2008) demir ilaveli fermente

sütlerin yoğurt bakterilerinin gelişimlerini etkilemediğini bildirmiştir. Daha önceki çalışmalarda 10 mg/L demirle (Fe^{++} ve Fe^{+++}) zenginleştirilen bufalo sütünde lezzet kusurlarının oluşmadığı belirlenmiştir (Saini ve ark., 1993). Demir yağ oksidasyonunu da teşvik etmektedir. Demirle zenginleştirilmiş süt bazlı içecek endüstrisindeki temel problemler protein kararsızlığının demir aracılığı ile teşvik edilmesi, demirin zayıf emilimi ve istenmeyen renk oluşumudur.

Magnezyum ve selenyum gibi mineraller de fonksiyonel süt bazlı içecek üretiminde kullanılmaktadır. Mg ilaveli süt bazlı içecekler Fransa'da yoğun ilgi görmektedir. Selenyum ile zenginleştirilen ticari olmayan süt bazlı içecekler de son yıllarda artan ilgi ile karşılanmaktadır. Selenyum katkılı süt üretiminde temel problem pastörizasyon sırasında selenyum kaybıdır. Yeni Zelanda'daki araştırmalara göre inek ve koyun sütüne selenyum ilavesi ile enjeksiyon veya direkt selenyum kapsülü alımına göre 20 kat daha fazla selenyum vücuda alınmaktadır (Agresearch, 2007).

Üretim sırasındaki kayıpları iyileştirmek için alkolsüz içecekler vitaminlerle zenginleştirilmekte ya da ürünün besin değeri artırılmaktadır. Süt, temel bir vitamin kaynağı değildir, ancak bazı B-vitaminlerince zengindir. Sütün işlenmesi sırasında bazı vitaminler çeşitli seviyelerde yıkıma uğramaktadır. Örneğin; pastörize, sterilize ve UHT sütlerde kaybolan folik asit seviyesi sırasıyla %5, %30 ve %20'dir (Ottaway, 2009). B₆-vitamini ve B₁₂-vitamini pastörizasyon sıcaklığına dayanım göstermektedir ancak sterilizasyon sıcaklığında %20 dolayında kayıp oluşmaktadır. Süt bazlı içecek sektöründe yalnızca D-vitamini ile sütün zenginleştirilmesi ticari olarak dikkati çekmektedir.

2.4. Fonksiyonel Fermente Peyniraltı Suyu İçeceği

Susuzluk giderici peyniraltı suyu temelli içecekler genellikle protein içermeyen peyniraltı suyu permeatından hazırlanmaktadır. İsviçre’de üretimi gerçekleştirilen Rivella isimli bir gazlı içecek bu tip ürünlere örnek olarak verilebilir. Susuzluk giderici peyniraltı suyu içecekleri içerisine fonksiyonel bileşenler ilave edilmedikçe fonksiyonel ürün olarak adlandırılmamaktadır (Barth, 2001; Jelen, 2009).

Quark ve Cottage peynirlerinin üretimi sırasında atık olarak ayrılan peyniraltı suyu asit peyniraltı suyu olarak adlandırılmaktadır. Bu tip peyniraltı suları asidik doğaları gereği meyve suyu bazlı peyniraltı suyu içeceklerinin üretimine daha uygundur (Özer ve Kırmacı, 2010). Bu tip içeceklerin üretiminde mineral ve vitamin katkısı yaygın bir uygulamadır. Özellikle, mineral katkılı izotonik sporcu içecekleri tüketiciler tarafından yaygın olarak kabul görmektedir. Dışarıdan ilave edilen mineral ve vitaminlere ek olarak meyvelerden gelen bazı nutrasötik maddeler (örneğin, domates suyu katkılı içeceklerde likopen varlığı) son ürünün fonksiyonel özelliğini artırmaktadır. Son yıllarda, peyniraltı suyu içeceklerinin üretiminde probiyotik bakterilerden yararlanma olanakları üzerine araştırmalar yoğunlaşmış durumdadır (Tripathi ve Jha, 2004; Maity ve ark., 2008; Hernandez-Mendoza ve ark., 2007). Maity ve ark. (2008) *Lb. rhamnosus* NCDO 243, *Bifidobacterium bifidum* NCDO 2715 ve *Propionibacterium freudenreichi* subsp. *shermanii* MTCC 1371 kullanarak fermente probiyotik peyniraltı suyu üretimi olanaklarını araştırdığı çalışmada deproteinize peyniraltı suyunu (%4.6 laktoz, %0.62 kül, %0.48 yağ, %0.5 protein) %4 oranında probiyotik bakteriler ile inoküle etmiş ve ürünü 37 °C’de 18 saat süre ile fermentasyona bırakmıştır. Bu şekilde hazırlanan üründe probiyotik

bakteri sayısının 15 günlük depolama süresi sonucunda terapatik etki için gerekli en düşük seviyenin üzerinde kaldığı belirlenmiştir. Bir diğer çalışmada; peyniraltı suyu retentatı ile zenginleştirilmiş süt permeatı *Lactobacillus acidophilus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4 ve *Enterococcus faecium* L3 ile inoküle edilerek fermente peyniraltı suyu içeceği üretilmiştir (Pavunc ve ark., 2009). Pektin ve sakaroz ilavesi ile rekonstitüe peyniraltı suyu içeceği üretimi üzerine gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise *Lactobacillus reuteri* ve *Bifidobacterium bifidum*'un sayısal yoğunluğunun 30 günlük depolama süresi boyunca fazla değişime uğramadan kaldığı ve üründe depolama süresince duyusal değişim meydana gelmediği saptanmıştır (Hernandez-Mendoza ve ark., 2007). Benzer sonuçlar, *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 ilave edilerek üretilen rekonstitüe peyniraltı suyu içeceğinde de elde edilmiştir (Drgalic ve ark., 2005). Minas frescal peyniri üretiminden açığa çıkan peyniraltı suları kullanılarak üretilen probiyotik peyniraltı suyu içeceğinde probiyotik bakterilerin türünün üründe asidifikasyon kinetiğini etkilediği belirlenmiştir. Buna göre; *Streptococcus thermophilus* ile birlikte kullanılan starter kültürler içerisinde *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* içerisinde *Lactobacillus rhamnosus* ile *Streptococcus thermophilus* karışımının en zayıf asit üretme yeteneğini gösterdiği saptanmıştır (Almeida ve ark., 2008). Probiyotik bakterilerin gelişimini teşvik etmek amacıyla peyniraltı suyuna serum proteini konsantratu ilave etmek bir diğer seçenektir. Ancak, bu konu üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda serum proteini konsantratu ilavesinin *Lactobacillus acidophilus*'un gelişimini teşvik ettiği görülmekle birlikte bu uygulamanın *Bifidobacterium* spp. üzerindeki etkilerinin önemsiz olduğu ortaya konulmuştur (Matijevic ve ark., 2008).

2.5. İzoflavon ve Sterolün Sağlık Üzerine Etkileri

İzoflavonlar, koruyucu fonksiyonlara sahip ve vücuttaki östrojeni etkileyen bitkisel maddelerdir. İzoflavonlar birçok gıdada bulunmakla birlikte bilinen en iyi kaynağı soya fasulyesidir (Messina, 1999). Kırmızı yonca ise diğer bir önemli izoflavon kaynağıdır. Kırmızı yonca direkt tüketime uygun değildir; ancak, kırmızı yoncadan ekstrakte edilen izoflavonlar gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. İzoflavonlar güçlü antioksidan kapasiteye sahiptir ve bu etkisi DNA'nın oksidatif deformasyona karşı korunması ve dolayısıyla uzun vadede kanser riskinin azalmasına neden olmaktadır. Soya izoflavonları içinde en güçlü antioksidanlar genistein ve daidzeindir. Doğada izoflavonlar genellikle glikozidler halinde bulunur ve sindirim sistemi mikroflorasında dekonjuge olurlar. İzoflavon kanda absorbe olabilmektedir (Awaisheh ve ark., 2005). İzoflavonların çoğu suda zayıf çözünme yeteneğine sahiptir ve bu özelliğinden dolayı acılık ve fasulye tadı gibi lezzet kusurlarına yol açabilmektedir.

Bitki steroller ve stanol esterler steroid alkollerin bir grubudur. Fitokimyasallar bitkilerde doğal yolla oluşmaktadır. Fitosteroller mide, akciğer, yumurtalık ve göğüs kanserini engelleme potansiyeline sahiptir (Woyengo ve ark., 2009). Bitkisel stanoller gıdalara ilave edildiğinde sindirim sistemindeki tüm sterollerin absorpsiyonunu azaltıcı etki göstererek serum kolesterol seviyesini düşürür. Jones ve ark. (1999), gıdalar aracılığı ile günde 1.7 g fitosterol alımının kan kolesterolünü düşürücü etki gösterdiğini kanıtlamışlardır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar günde 1.6 g fitosterol içeren düşük yağlı süt tüketiminin LDL (Low Density Lipoprotein) seviyesini 6 haftada %8 azalttığını ortaya koymuştur (Hansel ve ark., 2007). Bir

başka çalışma sonucunda ise >2 g/ gün düzeyinde fitosterol tüketiminin LDL-kolesterol seviyesini 0.33-0.54 mmol/ L düzeyinde azalttığı saptanmıştır (Law 2000). Avrupa Gıda Güvenlik Otoritesi (EFSA) ve ABD Gıda ve İlaç Otoritesi (FDA) bitki sterollerini gıda katkı maddesi olarak kabul etmektedir (EFSA, 2009; FDA, 2009). Bitki sterolleri veya stanolleri ve esterlerini içeren süt bazlı ürünlerin sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Bitki stanolü içeren ürünler özellikle içecek sektöründe yaygındır. Bazı ülkelerde '*etkili günlük doz*' tek kullanımlık gıdalar aracılığı ile sağlanmaktadır (örneğin, Finlandiya). Bununla birlikte; EFSA ve FDA'nın izin verdiği stanollerin/sterollerin sürekli aşırı doz tüketiminin güvenlik riskine sebep olup olmadığı halen tartışılmaktadır. Bu yüzden stanol/sterol içeren ürünlerde uygun bir bilgilendirici etiket bulunması yasal bir zorunluluktur. Fitosteroller suda zayıf çözünmektedir ve düşük yağlı veya yağsız süt bazlı içeceklerde teknolojik problemlere sebep olabilmektedir (Sharma, 2005).

BÖLÜM III

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Peyniraltı Suyu Tozu

Araştırmada ENKA Süt İşletmesi (Konya) tarafından sağlanan 3 farklı inek peyniraltı suyu tozu (demineralize edilmemiş, %50 ve %70 oranında demineralize edilmiş) kullanılmıştır. Kullanılan demineralize peyniraltı suyu tozlarının kimyasal kompozisyonu Çizelge 3.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan demineralize peyniraltı suyu tozlarının kimyasal kompozisyonu (üretici firma bilgilerini içermektedir).

	Nem (%)	Yağ (%)	Protein * (%)	Kül (%)	Laktoz (%)	Tuz (%)	pH	Asitik (%d.a.)
Demineralize edilmemiş p.a.s.	3	1	8	10	79	7.0	6.20	0.150
%50 demineralize p.a.s.	3	1	8	5	83	3.5	6.20	0.150
%70 demineralize p.a.s.	3	1	8	3.5	85	2.6	6.20	0.130

* Yağsız kurumadadaki değer

3.1.2. Starter Kùltürler

Lactobacillus acidophilus La-5 Peyma-Chr. Hansen A.Ş. (Gayrettepe, İstanbul), *Lactobacillus casei* Lbc-81 ise Rhodia (Rhodia UK Ltd., Oak House Reeds Crescent, Hertfordshire, UK) firmalarından ticari olarak liyofilize formda sağlanmıştır.

3.1.3. Fonksiyonel Bileşenler

Araştırmada kullanılan soya kökenli izoflavon ve bitkisel steroller sırası ile GNC Live Well (Nutra Manufacturing, Inc. 1050 Woodruff Road Greenville, SC, ABD) ve Healthspan Ltd. (PO Box 64 Guernsey, GY1 3BT, İngiltere) firmalarından sağlanmıştır.

3.1.4. Kimyasal Malzemeler

Tüm kimyasal malzemeler SIGMA-ALDRICH Co. (Münih, Almanya) firmasından sağlanmıştır. Stabilizatör olarak Mukatti marka ticari karışık stabilizatör kullanılmıştır (Benosen Gıda Sanayi Kimya ve Dış Tic. Ltd. Şti., İstanbul). Stabilizatörün içeriği ticari sır kapsamında olduğundan belirtilmemiştir; ancak, sağlayıcı firma tarafından serum proteini içeren içeceklerde kullanımı önerilmektedir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Peyniraltı Suyu İçeceği Üretimi

3.2.1.1. Ön denemeler

Ön denemeler kapsamında üç farklı parametrenin koşulları belirlenmiştir. Birinci basamakta, stabilizatör konsantrasyonu belirlenmiştir. Bu amaçla; %0 ile %1 (w/v) arasında değişen konsantrasyonlarda stabilizatör kullanılarak üretilen içeceklerde fiziksel stabilite testleri yapılmış ve stabilizatör konsantrasyonunun %0.7 (w/v) olmasına karar verilmiştir. İkinci basamakta inulin ve fruktooligosakkaritin (FOS) prebiyotik olarak kullanımının gerekli olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla ayrı ayrı %1 oranında kullanılan prebiyotik maddelerin probiyotik bakteri gelişimine olan katkıları değerlendirilmiş ve prebiyotik kullanımının pratik bir katkısının olmadığı sonucuna varılmıştır. Son olarak, peyniraltı suyu tozu demineralizasyon oranının bakteri gelişimi ve diğer teknolojik parametreler üzerine etkilerini belirlemek amacıyla demineralize edilmemiş ve %70 ile %50 oranlarında demineralize edilmiş üç farklı peyniraltı suyu tozu kullanılarak içecek üretimi gerçekleştirilmiş ve demineralizasyon oranının ürünün mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır. Ön denemeler ile ilgili detaylı değerlendirmeler Bölüm 4.1.1 ve 4.1.2.'de verilmiştir.

Peyniraltı suyu içeceği üretiminde iki farklı nutrasötik bileşen (fitosterol ve soya izoflavon) kullanılmıştır. Nutrasötik ilave edilmemiş ürün ise kontrol örneği olarak değerlendirilmiştir. Nutrasötik bileşen konsantrasyonları %0, %0.25, %0.50 ve %1.0

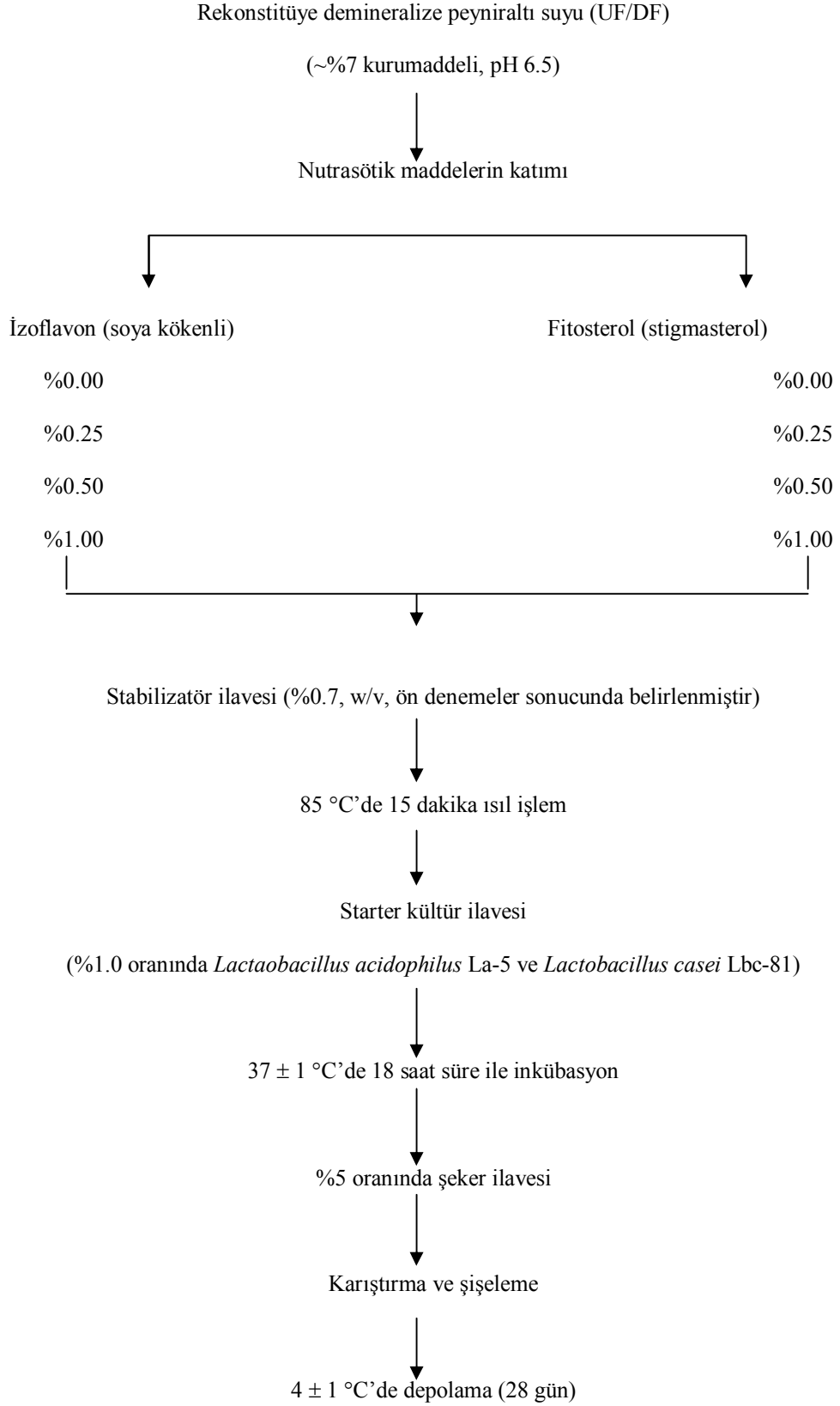
olarak belirlenmiştir. %7 kurumaddeli rekonstitüye peyniraltı suyu içeceğine %0.7 (w/v) oranında stabilizatör ilave edilmiş ve ardından ürüne 85 °C’de 15 dakika ısıtma işlemi uygulanmıştır. Isıtma işleminin ardından 37 °C’ye kadar soğutulan içeceğe %1 (v/v) oranında probiyotik bakteri (*Lb. acidophilus* La-5 ve *Lb. casei* Lbc-81) inokülasyonu gerçekleştirilmiştir. İnokülasyon öncesinde bakteriler ayrı ayrı MRS broth’da 37 °C’de 18 saat süre ile geliştirilmiş ve santrifüj edilerek (Sigma 2-16 KC soğutmalı santrifüj, 4 °C, 17000 x g) pellet ayrılmıştır. Ayrılan pellet ¼ kuvvetinde Ringer çözeltisi içerisinde süspansiyon edilmiş ve aynı koşullarda bir kez daha santrifüjlenmiştir. Ardından ayrılan pellet ¼ kuvvetine Ringer çözeltisinde süspansiyon edilmiş ve her bir bakteriden %0.5 olacak şekilde toplam %1 (v/v) oranında inokülasyon gerçekleştirilmiştir. Üretim akış şeması Şekil 3.1.’de verilmektedir.

3.2.2. Kimyasal Analizler

pH ölçümlerinde bileşik elektrodlu bir dijital pH-metre kullanılmıştır (20 °C) (Mettler-Toledo S.A.E., Barselona, İspanya). Titrasyon asitliği ölçümü ise Anonim (1981)’e göre gerçekleştirilmiştir. Peyniraltı suyunda kurumadde, laktoz, kül ve protein analizleri APHA (1993)’e göre yürütülmüştür.

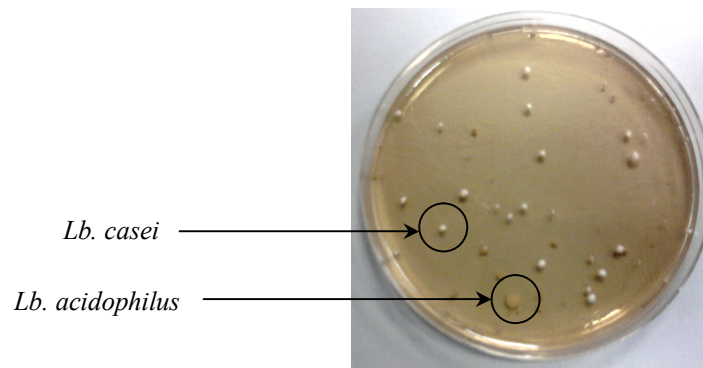
3.2.3. Mikrobiyolojik Analizler

Probiyotik bakterilerin sayımında dökme agar yöntemi kullanılmıştır. Seri dilüsyonların hazırlanmasında ¼ kuvvetinde Ringer çözeltisinden (Oxoid, Unipath, Basingstoke, UK) yararlanılmıştır.



Şekil 3.1. Fonksiyonel peyniraltı suyu içeceği üretim akış şeması

Lactobacillus acidophilus ve *Lactobacillus casei* sayımında BCG-Trehalose ve Sorbitol MRS agar besiyeri kullanılmıştır (Locascio ve ark., 2004). Sorbitol ekleme oranı %10 (v/v) olarak belirlenmiştir. BCG-Trehalose-MRS agar bileşimi: 10 g/L pepton, 8 g/L meat ekstraktı, 0.4 g/L yeast ekstraktı, 20 g/L trehalose, 2 g/L dipotasyum hidrojen fosfat, 1 mL/L Tween 80, 2 g/L triamonik sitrat, 5 g/L soydum asetat, 3 H₂O, 0.1 g/L magnezyum sülfat, 7 H₂O, 0.05 g/L magnezyum sülfat, 4 H₂O, 15 g/L agar, pH 6.8. Trehalose çözeltisi (%40, w/v) membran filtrasyonuna tabi tutulmuştur ve katım oranı %2 (v/v) olarak belirlenmiştir. Boyama çözeltisi; bromkrezol yeşilinin (BCG) (0.06 g) 15 mL NaOH içerisinde çözündürülmesi ile hazırlanmıştır (0.01 M son konsantrasyon). Boyama çözeltisi membran filtrasyonuna tabi tutulmuştur ve 2 mL çözelti 100 mL agar üzerine aktarılmıştır. BCG varlığında renkli halo oluşturarak zon meydana getiren koloniler *Lactobacillus casei*, renk oluşturmayan koloniler ise *Lactobacillus acidophilus* olarak tanımlanmıştır (Bkz. Şekil 3.2.). İnkübasyon sıcaklığı ve süresi 37 °C’de 72 saat olarak belirlenmiştir. Sonuçlar kob/mL olarak verilmiştir.



Şekil 3.2. *Lb. acidophilus* La-5 ve *Lb. casei* Lbc-81’in BCG-Trehalose-MRS agar üzerindeki tipik görünimleri.

3.2.4. Fiziksel Analizler

Örneklere ait fiziksel değerlendirmelerde sedimentasyona karşı direncin belirlenmesi esas alınmıştır. Bu amaçla, TURBISCAN®LAB Expert Stabilité Analizörü (Formulaction, Smart Scientific, Fransa) cihazı kullanılmıştır. Cihaz temel olarak bir NIR ışık kaynağından (800 nm) örnek üzerine gönderilen fotonların örnek içerisindeki partiküllere çarpıp saçılması ve saçınımının iki dedektör tarafından algılanması esasına göre çalışmaktadır. Elde edilen sonuçlar, transmission (T) (saydam örnekler için) veya backscattering (BT) (opak örnekler için) modunda değerlendirilmektedir. Normal koşullarda fiziksel olarak stabil bir ürün için BT ve/veya T değerlerinin değişmeden kalması beklenmektedir. Ölçümler oda sıcaklığında ve 800 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Toplam test süresi 60 dakika olarak belirlenmiştir ve tarama hızı 1 dakika/tarama (scan) olarak uygulanmıştır. Toplam analiz edilen örnek hacmi 20 mL olarak seçilmiştir.

3.2.5. Duyusal Analizler

Duyusal analizlerde 9-puan değerlendirme modeli esas alınmıştır (Lawless ve Hetmann, 1999). Değerlendirmelerde 10 panelist yer almıştır ve her bir panelist aynı anda en çok 5 örneği test etmiştir. Örnekler tesadüfi olarak numaralandırılmış ve panelistler belirli bir sıra ile ürünleri test etmiştir. Değerlendirme formlarında 9 cm uzunluğunda 7 ayrı çizgi sunmuş ve her bir çizgi sırasıyla renk, görünüş, asidite, yağimsı aroma, tahılsı aroma, genel tat/aroma, genel kabul edilebilirlik değerlerini ifade etmiştir (1 en kötü, 9 en iyi örnek özelliği) (Şekil 3.3.). Tüm değerlendirmeler iki tekrarlamalı olarak gerçekleştirilmiştir.

Panelistin Adı-Soyadı :
Yaşı :
Sigara kullanma durumu :
Tarih :

Lütfen örnekleri aşağıda belirtilen değerlendirme kriterlerini dikkate alarak puanlayınız.

(1) çok kötü (9) çok iyi

Şu an test etmekte olduğunuz örnekler 70% demineralize peyniraltı suyundan hazırlanmış bir fonksiyonel içecektir. Bu içecek iki farklı probiyotik bakterinin (*Lb. casei* ve *Lb. acidophilus*) karışımından hazırlanmış olup içerisinde değişen oranlarda bitkisel fitosterol (kolesterol düşürücü özelliğe sahiptir) veya soya kökenli izoflavon içermektedir. Bu maddeler gıda katkısı olarak tüketime uygundur ve TC.Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, ABD FDA ve AB EFSA kriterlerine göre gıdalarda kullanım sertifikasına sahiptir.

Renk	1 ← _ _ _ _ _ _ _ 9
Görünüş	← _ _ _ _ _ _ _
Asidite	← _ _ _ _ _ _ _
Yağimsi aroma	← _ _ _ _ _ _ _
Tahılsı aroma	← _ _ _ _ _ _ _
Genel tat/aroma	← _ _ _ _ _ _ _
Genel kabuledilebilirlik	← _ _ _ _ _ _ _

Şekil 3.3. Deneme örneklerinin duysal değerlendirmelerinde kullanılan form.

3.2.6. İstatistiksel Analizler

Çalışma iki tekrarlamalı dört paralelli olarak yürütülmüştür. Tüm sonuçlar SPSS Version 9 paket istatistik programı aracılığı ile varyans analizine tabi tutulmuş ve gruplar arası farklılıklar Least Significance Difference Test (LSD) aracılığı belirlenmiştir (Gacula ve Singh, 1984). Gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde sınır $p<0.05$ olarak alınmıştır.

BÖLÜM IV

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Ön Denemeler

4.1.1. Stabilizatör Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Deneme örneklerinin üretiminde kullanılan stabilizatör konsantrasyonu ön denemeler sonucunda belirlenmiştir. Bu amaçla %0.00 ile %1.00 arasında değişen 13 farklı konsantrasyonda stabilizatör ilave edilen peyniraltı suyu örnekleri 4 °C’de 1 hafta depolanmış ve sedimentasyon oluşumu görsel olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.1.). Bu değerlendirmenin ardından belirlenen 5 farklı stabilizatör konsantrasyonu (%0.1, %0.3, %0.5, %0.7 ve %1.0) nutrasötik bileşen ilave edilmeksizin probiyotik bakteriler aracılığı ile fermente edilmiş peyniraltı suyu üretiminde kullanılmış ve örnekler 1 gecelik soğuk depolama sonunda TURBISCAN®LAB Expert cihazı ile sedimentasyon testine tabi tutulmuştur. Stabilizatör konsantrasyonuna karar verme aşamasında ürünün sedimentasyon oluşturmaya karşı direnci esas alınmıştır. Örneklerin sedimentasyon oluşturma düzeyleri, örnek içerisinde yer alan partiküllerin konsantrasyonu, boyutu ve dispers ve sürekli fazın kırılma indeksleri ile yakından ilişkilidir. Denemede örneklerin partikül konsantrasyonları sabit tutulmuştur. Ayrıca, tüm örnekler aynı anda ve aynı niteliklere sahip distile su ile

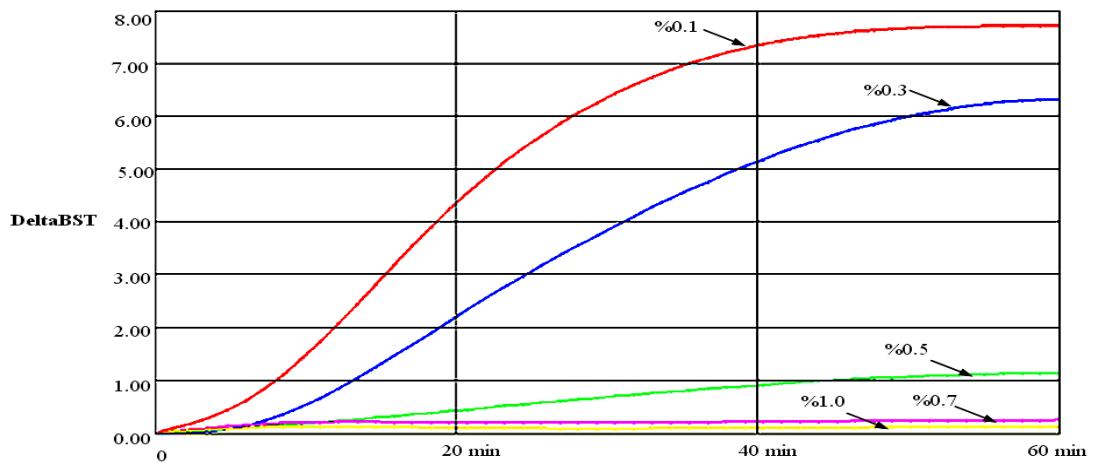
hazırlanıldığından sürekli ve dispers fazlarda sudan kaynaklanan bir farklılık beklenmemektedir. Bu durumda, sedimentasyon testi sonucunda meydana gelen değişimler büyük oranda üründe zaman bağlı partikül boyutu değişimi ve/veya faz ayrılması ile ilişkilendirilmektedir. Şekil 4.2’de, farklı düzeylerde stabilizatör içeren fermente peyniraltı suyu örneklerinin sedimentasyona karşı dirençleri görülmektedir. Buna göre; %1.0 ve %0.7 oranında stabilizatör içeren örneklerde zamana bağlı bir geri saçınım (Δ BST-delta backscattering) değişimi gözlenmemiştir. Bu durum, bu örneklerde zamana bağlı olarak partikül boyutunda bir değişim meydana gelmediğine ya da çok sınırlı bir sedimentasyonun oluştuğuna işaret etmektedir. Stabilizatör konsantrasyonunda azalma ile doğru orantılı olarak örneklerin fiziksel kararlılığı azalmıştır. Bu sonuçlara göre; denemenin ilerleyen süreçlerinde %0.7 oranında stabilizer kullanımına karar verilmiştir. Örneklere ait sedimentasyon tarama profilleri Şekil 4.3 a-e’de sunulmaktadır.



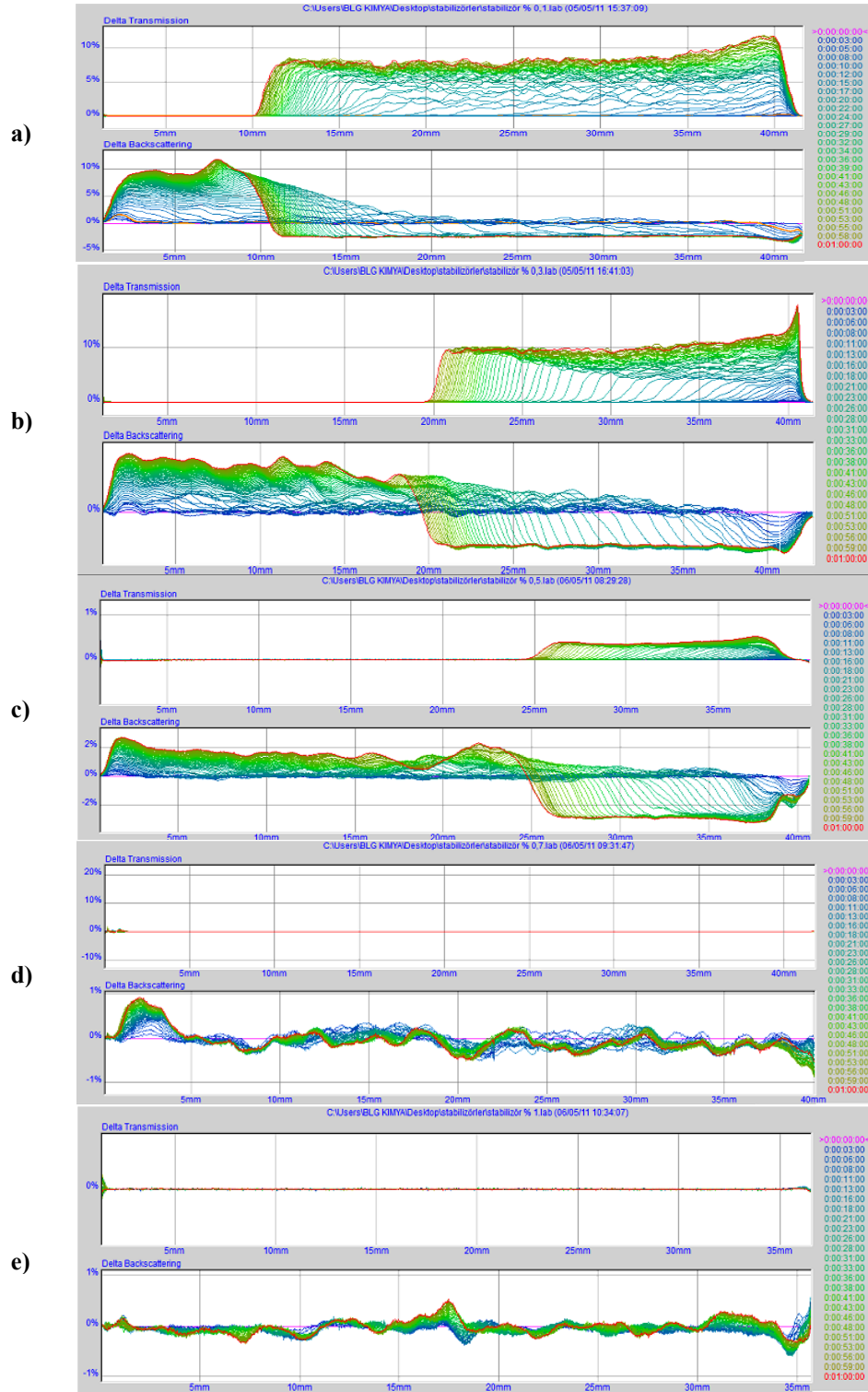
Kontrol	% 0,05	% 0,075	% 0,125	% 0,150	% 0,175	% 0,1	% 0,2	% 0,3	% 0,4	% 0,5	% 0,7	% 1,0
----------------	---------------	----------------	----------------	----------------	----------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------

Şekil 4.1. 13 farklı konsantrasyonda stabilizatör ilave edilen peyniraltı suyu örneklerinde 1 haftalık depolama sonucunda sedimentasyon ve faz ayrılmasının görsel değerlendirmesi.

Peyniraltı suyu içeceklerinde denatüre serum proteinlerinin varlığı bulanıklılık ve/veya sedimentasyon sorunlarına yol açmaktadır (Etsel, 2004). Bu handikabın giderilmesinde pH kritik önem sahiptir. Özellikle son ürünün pH'sının serum proteini izolatinin izoelektrik noktasından ($pI=3.0$) düşük olması durumunda berrak bir içecek elde edilebilmektedir (CFR21, 2008; Etsel, 2004). Ürünün pH'sı 4.0'a yaklaştıkça ısı uygulamanın ardından türbidite artmaktadır. Çalışmamızda, ısı işlem uygulaması fermentasyondan önce gerçekleştirildiğinden pH 6.5 dolayındaki rekonstitüe peyniraltı suyuna ısı işlem uygulaması olasılıkla türbiditeyi teşvik etmiştir. $pI=3.0$ 'dan yüksek pH değerlerinde ısı işlem uygulamasının zorunlu olduğu durumlarda, protein denatürasyonunu engelleyici ve agregasyonu geciktirici bileşenlerin ilavesi olumlu sonuçlar verebilmektedir (Etsel, 2004; Reddy ve ark., 2005). Bu bileşenler içerisinde lauril sülfat en yaygın kullanılan anti-denatürant olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca; prolin, üre ve alkoller de benzer bir mekanizma ile protein denatürasyonunu engelleyici ya da agregasyonu sınırlayıcı etki yapmaktadır (Romero ve ark., 2007; Samuel ve ark., 2000; Damodaran ve ark., 2007).



Şekil 4.2. Farklı stabilizatör düzeylerinin fermente probiyotik peyniraltı suyu içeceğinde sedimentasyon hızı üzerine etkisi.



Şekil 4.3. Farklı oranlarda stabilizatör içeren peyniraltı suyu içeceğine ait sedimentasyon tarama grafikleri. Stabilizatör konsantrasyonları: a) %0.1, b) %0.3, c) %0.5, d) %0.7 ve e) %1.0.

4.1.2. Prebiyotik Madde Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Probiyotik fonksiyonel peyniraltı suyu örneklerinde probiyotik bakterilerin tüketim anında sayısal yoğunluğu ürünün başarısı için birincil öneme sahiptir. Bu nedenle, örneklerde depolama süresi boyunca probiyotik bakteri sayısının terapatik etki sınırının ($>10^7$ kob/mL) altında olmamasının sağlanması gerekmektedir. Bu amaçla; deneme örneklerine prebiyotik etkileri güçlü olan inülin ve fruktooligosakkarit (FOS) ayrı ayrı ilave edilerek bakteri sayısı üzerindeki etkileri belirlenmiştir. FOS ve inülin katım oranları %1 (w/v) olarak belirlenmiştir. Ayrıca, peyniraltı suyu içeceklerinin duyuusal özellikleri ile peyniraltı suyu tozlarının mineral madde düzeyleri arasında yakın ilişki bulunduğundan çalışma kapsamında demineralize edilmeyen, %50 oranında demineralize edilen ve %70 oranında demineralize edilen peyniraltı suyu örneklerinde asitlik (pH ve toplam titre edilebilir asitlik) gelişimi ve probiyotik bakteri sayılarındaki değişimler araştırılmış ve en uygun demineralizasyon oranının tespit edilmesine çalışılmıştır. Son olarak, üründe tat dengesinin sağlanması ve duyuusal çekiciliğin artırılması amacıyla şeker ilavesinin probiyotik bakteri sayısı üzerine olası etkileri de irdelenmiştir.

Farklı demineralizasyon düzeylerinde peyniraltı suyu tozu kullanılarak ve farklı prebiyotik bileşen ilave edilerek üretilen fermente içeceklerin kimyasal kompozisyonları Çizelge 4.1. ve 4.2.'de sunulmaktadır. Buna göre; prebiyotik madde içermeyen örneklerin toplam kurumadde konsantrasyonları %8.30-8.39 arasında değişirken, inülin ya da FOS ilave edilen örneklerde bu değerler %9.00-9.32 seviyelerine çıkmıştır.

Deneme örneklerinin toplam titrasyon asitliği düzeylerinde 28 günlük depolama süresince meydana gelen değişimler Şekil 4.4. ve 4.5.'de sunulmaktadır. Genel olarak, demineralize edilmeyen peyniraltı suyu tozundan üretilen örneklerin titrasyon asitliği değerleri diğer örneklerden bir miktar daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Şeker ve fonksiyonel bileşen katkısı içermeyen prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerine ait kimyasal bileşim değerleri ($X \pm SD$, g/100 mL) (n=2).

	Kurumadde	Protein	Laktoz	Kül
A	8.30 ± 0.223^a	3.64 ± 0.180^{ac}	4.34 ± 0.007^a	0.325 ± 0.035^a
A_{inulin}	9.14 ± 0.213^{bc}	3.16 ± 0.490^b	4.53 ± 0.367^b	0.450 ± 0.042^b
A_{FOS}	9.00 ± 0.199^b	3.54 ± 0.360^a	4.05 ± 0.678^c	0.415 ± 0.007^c
B	8.36 ± 0.203^a	3.70 ± 0.169^{cd}	4.36 ± 0.014^a	0.300 ± 0.084^d
B_{inulin}	9.22 ± 0.214^{cd}	3.38 ± 0.180^d	4.55 ± 0.707^b	0.295 ± 0.006^d
B_{FOS}	9.32 ± 0.208^d	3.16 ± 0.310^b	4.77 ± 0.078^d	0.390 ± 0.028^e
C	8.39 ± 0.206^a	3.73 ± 0.106^{cd}	4.41 ± 0.011^a	0.255 ± 0.021^f
C_{inulin}	9.10 ± 0.202^b	3.64 ± 0.127^c	4.18 ± 0.678^c	0.280 ± 0.028^g
C_{FOS}	9.13 ± 0.193^b	3.80 ± 0.220^d	4.09 ± 0.530^c	0.245 ± 0.007^f

* A: demineralize edilmemiş peyniraltı suyu tozundan elde edilen içecek, B: %50 oranında demineralize edilen peyniraltı suyu tozundan elde edilen içecek, C: %70 oranında demineralize peyniraltı suyu tozundan elde edilen içecek ** Tüm ürünler *Lb. acidophilus* La-5+ *Lb. casei* Lbc-81 karışım kültürü ile fermente edilmiştir *** Prebiyotik bileşen olarak inulin ve fruktooligosakkarit (FOS) kullanılmıştır (%1.0, w/v)

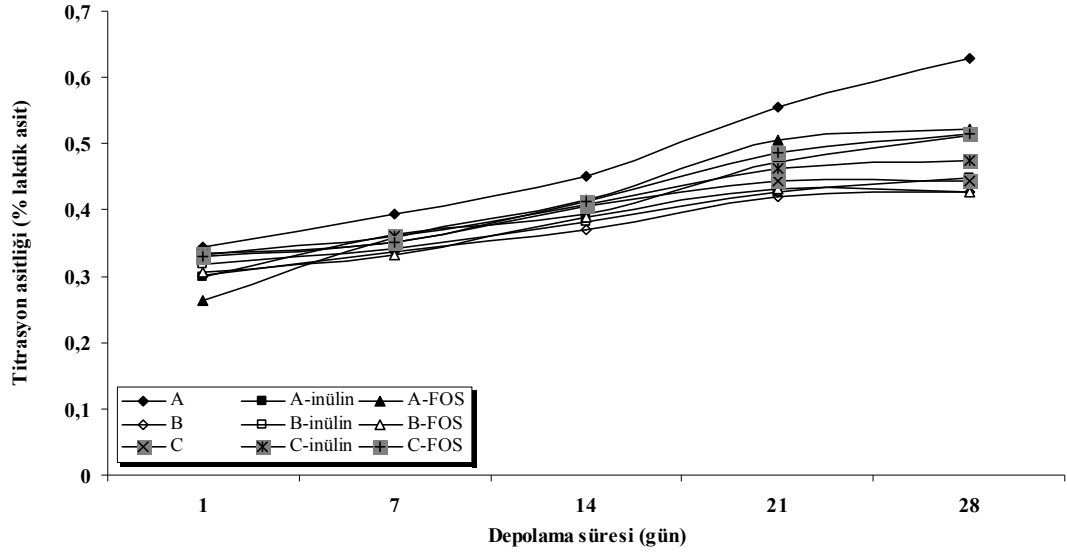
Çizelge 4.2. Fonksiyonel bileşen katkısı içermeyen %5 (w/v) şeker katkılı prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinin kimyasal bileşim değerleri ($X \pm SD$, g /100 mL) (n=2).

	Kurumadde	Protein	Laktoz	Kül
A_{şeker}	12.79 $\pm$ 0.245 ^a	3.54 $\pm$ 0.030 ^a	3.38 $\pm$ 0.075 ^a	0.520 $\pm$ 0.020 ^a
A_{inulin+şeker}	14.49 $\pm$ 0.194 ^b	3.32 $\pm$ 0.000 ^b	3.58 $\pm$ 0.070 ^b	0.505 $\pm$ 0.035 ^b
A_{FOS+şeker}	14.47 $\pm$ 0.205 ^b	3.76 $\pm$ 0.540 ^c	3.41 $\pm$ 0.065 ^{ac}	0.455 $\pm$ 0.065 ^c
B_{şeker}	13.31 $\pm$ 0.202 ^c	3.32 $\pm$ 0.000 ^b	3.23 $\pm$ 0.315 ^{dg}	0.380 $\pm$ 0.000 ^d
B_{inulin+şeker}	14.57 $\pm$ 0.199 ^{bd}	4.05 $\pm$ 0.134 ^d	3.50 $\pm$ 0.075 ^c	0.360 $\pm$ 0.010 ^e
B_{FOS+şeker}	14.36 $\pm$ 0.189 ^b	3.29 $\pm$ 0.106 ^b	3.31 $\pm$ 0.020 ^{ad}	0.360 $\pm$ 0.020 ^e
C_{şeker}	13.97 $\pm$ 0.252 ^c	4.27 $\pm$ 0.169 ^c	3.90 $\pm$ 0.655 ^c	0.315 $\pm$ 0.015 ^f
C_{inulin+şeker}	14.74 $\pm$ 0.193 ^d	4.27 $\pm$ 0.090 ^e	3.71 $\pm$ 0.380 ^f	0.280 $\pm$ 0.020 ^g
C_{FOS+şeker}	14.54 $\pm$ 0.207 ^{bd}	3.60 $\pm$ 0.310 ^c	3.19 $\pm$ 0.600 ^g	0.320 $\pm$ 0.050 ^f

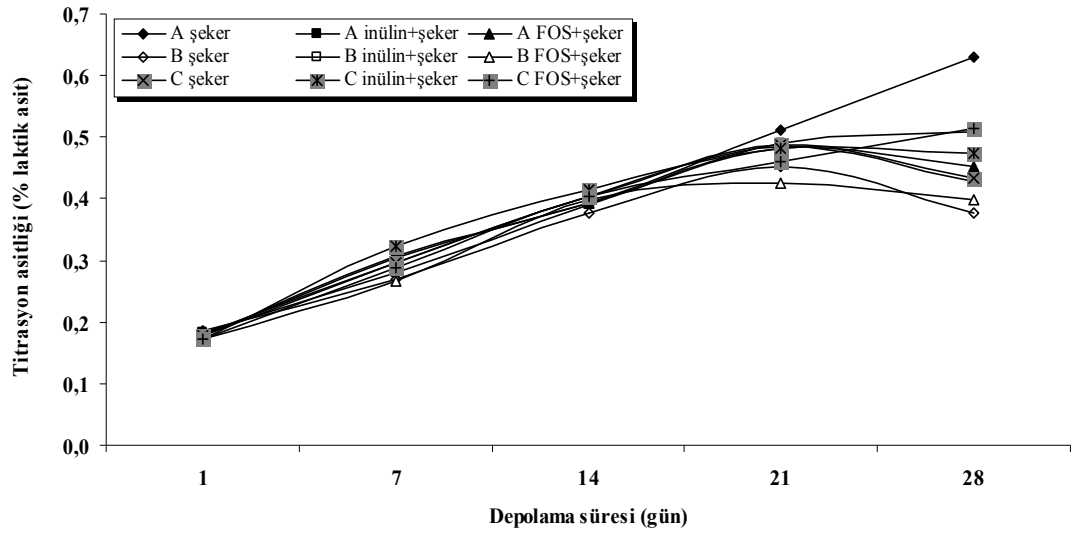
Prebiyotik madde ilavesinin titrasyon asitliği değerleri üzerine etkisi $p < 0.05$ düzeyinde önemli bulunurken %70 oranında demineralize edilen örneklerde FOS katkısının özellikle depolamanın ilerleyen aşamalarında asitlik gelişimine katkılarının belirginleştiği görülmüştür. Bu sonuçların aksine, Drgalic ve ark (2005) inülin katkısının *Lb.acidophilus* La-5 ve *Lb. casei* Lc-1 ilavesi ile üretilen peyniraltı suyu içeceklerinin titrasyon asitliği değerleri üzerine etkilerinin önemsiz düzeyde olduğunu bildirmiştir. Depolama süresince ise beklenildiği gibi asitlik değerleri tüm örneklerde kararlı bir artış göstermiştir. Genel olarak, A örneği (demineralize edilmemiş peyniraltı suyundan üretilen ve prebiyotik içermeyen ürün) depolama süresi boyunca en yüksek asitlik değerlerine sahip ürün olmuştur (Şekil 4.4.).

Şeker ilavesinin titrasyon asitliği değerleri üzerine etkisinin son derece sınırlı olduğu belirlenmiştir. Şeker katkısız örneklerde olduğu gibi demineralize edilmemiş ve prebiyotik katkısı içermeyen örnek en yüksek titrasyon asitliği değerlerine sahip iken inülin ve FOS ilavesinin titrasyon asitliği değerleri üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.5.). Tüm örneklerde depolamanın ilk 21 gününde asitlik artışı düzenli olurken, 28. depolama gününde A örneği hariç toplam asitlik değerleri belirgin bir artış göstermemiştir. Şeker ilavesinin yağsız sütlerde *Lb. acidophilus* tarafından asit üretimini teşvik ettiği bildirilmiştir (Agrawal ve ark. 1986). Olasılıkla, şeker varlığında laktobasiller tarafından asit üretimi tür ve suşa bağımlılık göstermektedir.

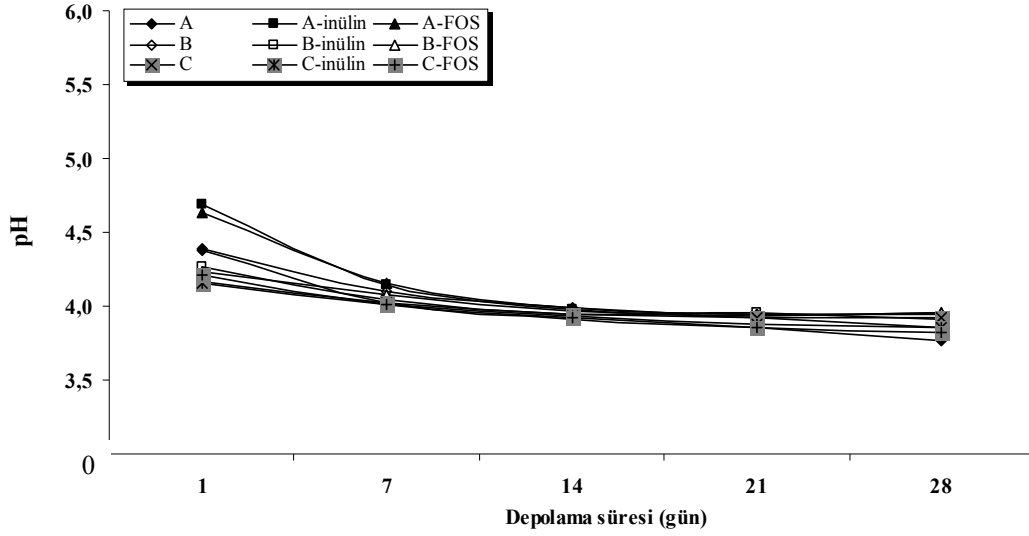
Deneme örneklerinin pH değerlerinde fermentasyon ve depolama süresince meydana gelen değişimler de Şekil 4.6. ve 4.7.'de sunulmaktadır. Depolamanın 1. gününde demineralize edilen peyniraltı suyu tozlarından üretilen örneklerde inülin ve FOS katkısının pH değerleri üzerinde etki yaratmadığı, buna karşın demineralize edilmemiş örneklerde (A grubu) pH değerlerinin %50 ve %70 oranlarında demineralize edilen örneklerden bir miktar daha yüksek olduğu görülmüştür. Genel olarak, depolama süresi boyunca gerek demineralizasyon oranı gerekse prebiyotik madde ilavesinin pH değerleri üzerindeki tek tek ve ortak etkileri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Deneme örneklerinin pH değişim profilleri fermentasyon sırasında da benzerlik göstermiştir. 18 saatlik fermentasyon süreci sonunda tüm örneklerin pH değerleri 4.4-4.5 aralığında yer almıştır. 28 günlük depolama sonunda ise örneklerin pH değerleri 3.75-4.06 pH arasında değişim göstermiştir.



Şekil 4.4. Fonksiyonel bileşen katkısı içermeyen şeker ilavesiz prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerine ait titrasyon asitliği değerleri değişimi (n=2).



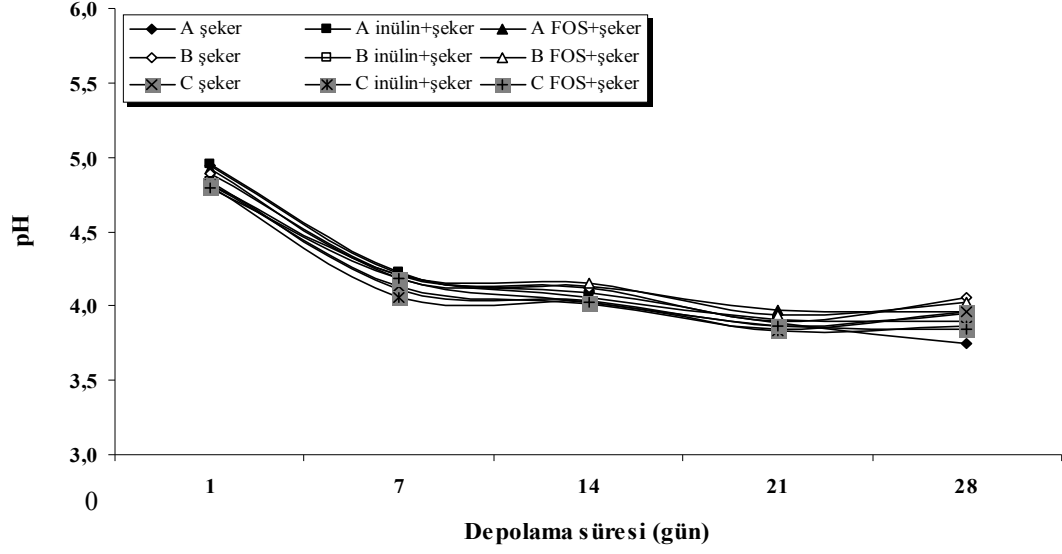
Şekil 4.5. Fonksiyonel bileşen katkısı içermeyen %5 (w/v) oranında şeker ilaveli prebiyotik/ probiyotik peyniraltı suyu içeceklerine ait titrasyon asitliği değerleri değişimi (n=2).



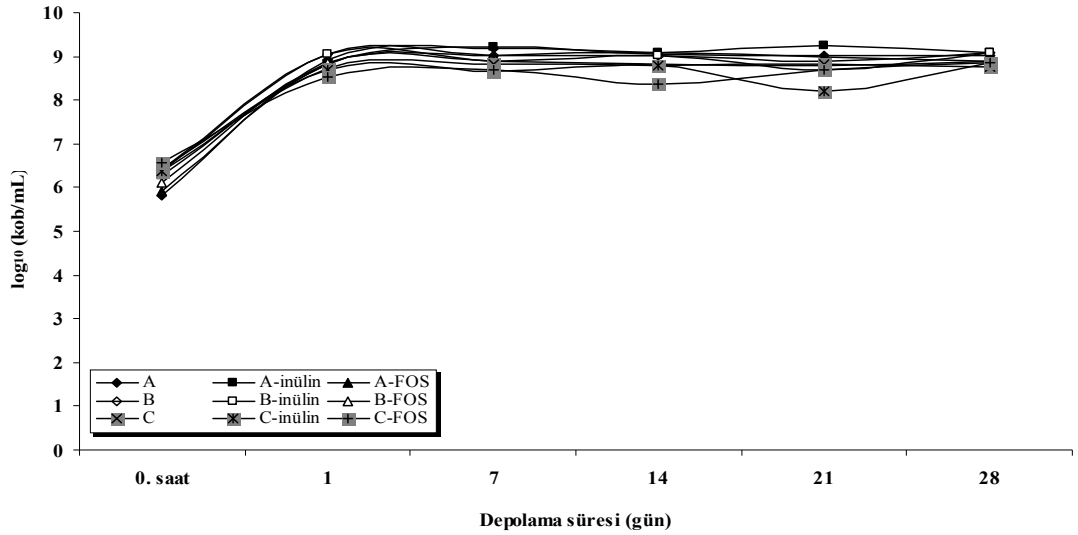
Şekil 4.6. Fonksiyonel bileşen içermeyen şeker ilavesiz prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinin pH değerlerinde depolama süresi boyunca meydana gelen değişim (n=2).

Deneme örneklerinin *Lactobacillus acidophilus* La-5 koloni sayılarında depolama süresince meydana gelen değişimler Şekil 4.7. ve 4.8.'de sunulmaktadır. Buna göre; tüm örneklerde *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayısı fermentasyon sırasında artış göstermiş, depolama sürecinde ise fazla bir değişime uğramamıştır.

Gerek depolama süresi gerekse prebiyotik bileşen ilavesinin *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayısı üzerinde etkili olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Drgalic ve ark. (2005) inülin ilave edilmiş peyniraltı suyu içeceklerinde *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayısının 28 günlük depolama sonucunda azalma gösterdiğini, *Lb. casei* Lbc-81 koloni sayısının ise inülin varlığından önemsiz düzeyde etkilendiğini ortaya koymuştur.



Şekil 4.7. Fonksiyonel bileşen içermeyen şeker ilaveli prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinin pH değerlerinde depolama süresi boyunca meydana gelen değişim (n=2).



Şekil 4.8. Fonksiyonel bileşen içermeyen şeker ilavesiz prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinin *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayılarında depolama süresi boyunca meydana gelen değişim (n=2).

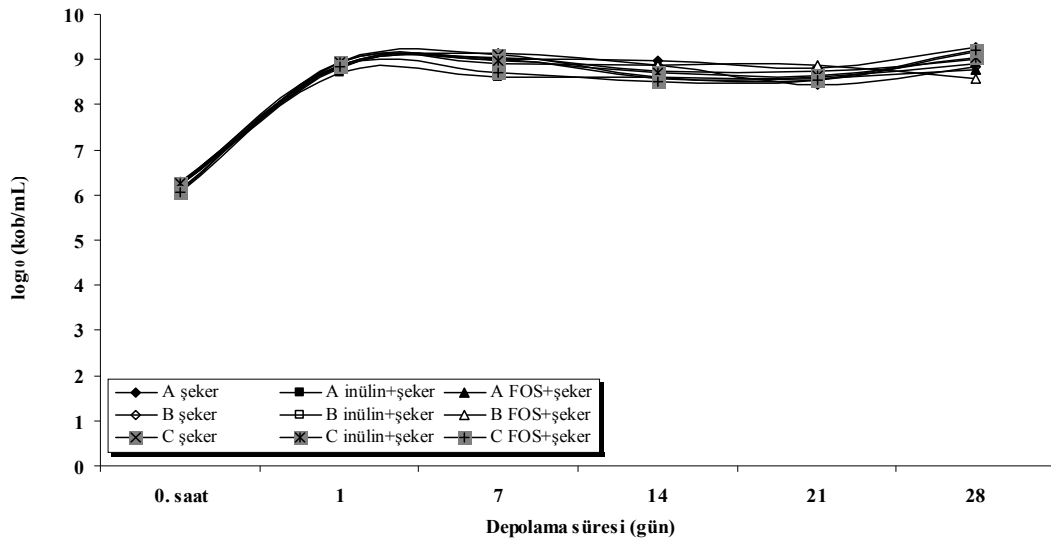
Bu çalışmanın temel hedefi probiyotik özelliği olan yeni bir fonksiyonel ürün geliştirilmesi olduğundan temel kriterin probiyotik bakterilerin varlıklarını depolama koşullarında sürdürmeleri ve tüketim anında terapatik etki için gerekli olan en alt sınırın ($>10^7$ kob/mL) üzerinde bir sayısal bütünlüğe ulaşmalarıdır. Bu noktada; probiyotik bakterilerin gelişimlerini desteklemek amacıyla süt ürünlerinde başarı ile kullanılan inülin ve FOS'un fermente peyniraltı suyu içeceklerinde ullanımının gerekli olmadığı anlaşılmıştır. Bu gerekçe ile denemenin ilerleyen aşamalarında inülin ve FOS kullanılmadan üretimler gerçekleştirilmiştir. Benzer şekilde, demineralizasyon oranının da *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayısı üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır.

Şekil 4.9. incelendiğinde, şeker ilavesinin *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayısında meydana gelen değişim profilini etkilemediği görülmektedir. Bilindiği gibi, şeker varlığı su aktivitesi dengesini değiştirdiğinden bakteri gelişimi üzerinde olumsuz etki yaratabilmektedir. Ancak, bu çalışma kapsamında kullanılan şeker düzeyinin yüksek su içeriğine sahip son üründe su aktivitesinde önemli miktarda azalmaya neden olmadığı görülmüştür. Şeker katkılı örneklerde de 28 gün sonunda *Lb. acidophilus* La-5 sayısı terapatik minimum seviyesinin üzerinde seyretmiştir.

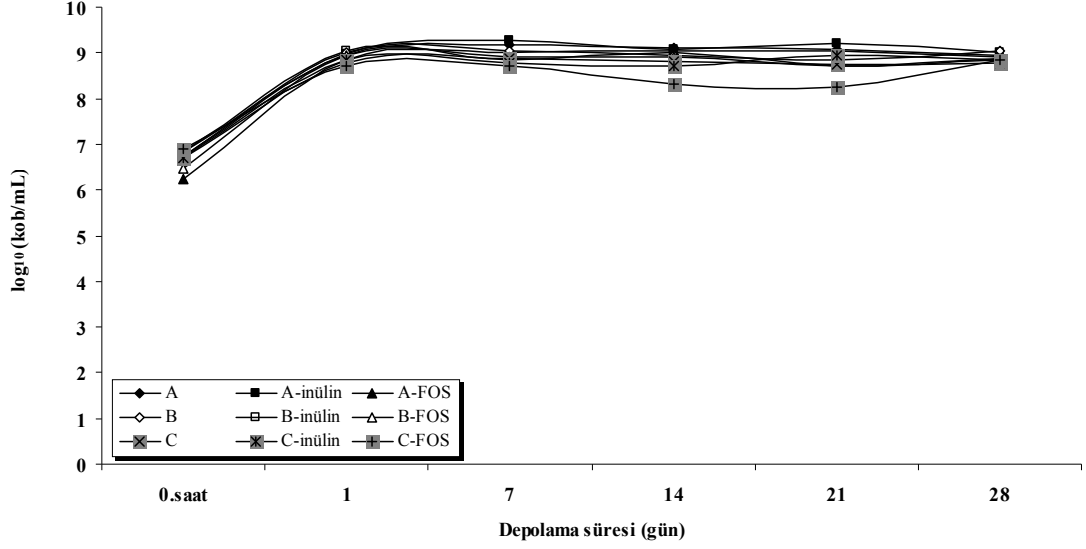
Benzer sonuçlar, üretimde kullanılan diğer probiyotik bakteri olan *Lactobacillus casei* Lbc-81 koloni gelişimi için de gözlenmiştir (Şekil 4.10. ve 4.11.). Hem inülin ve FOS katkısı hem de demineralizasyon düzeyi *Lb. casei* Lbc-81 canlı koloni sayılarında depolama süresinde belirgin değişim yaratmamıştır (Şekil 4.10.). Fermentasyon sırasında *Lb. casei* Lbc-81 koloni sayısında meydana gelen artış 28 günlük depolama süresince çok sınırlı bir değişim göstermiş ve depolamanın

sonunda 8.40-8.96 log₁₀ kob/mL seviyelerinde kalmıştır. Fermentasyon sırasında meydana gelen artış ise yaklaşık 2.11-2.60 log₁₀ düzeyinde olmuştur. Şeker ilavesinin de *Lb. casei* Lbc-81 koloni sayısında değişime neden olmadığı gözlenmiştir.

Şeker kaynağı olarak nsakkaroz, bal, yüksek fruktoz içerikli fruktoz şurubu veya inülin kullanılması durumunda *Lb. acidophilus*'un gelişiminin desteklendiği belirlenmiştir (Popa ve Ustunol, 2011). Vachon (1998), %5 sakkaroz ilave edilen süt örneklerinde *Lb. acidophilus* La-7'nin gelişiminin pozitif yönde geliştiğini, Shamala ve ark. (2000) ise bal ilavesi durumunda aynı bakterinin gelişiminin *in vivo* ve *in vitro* koşullarda belirgin artış gösterdiğini bulmuştur.

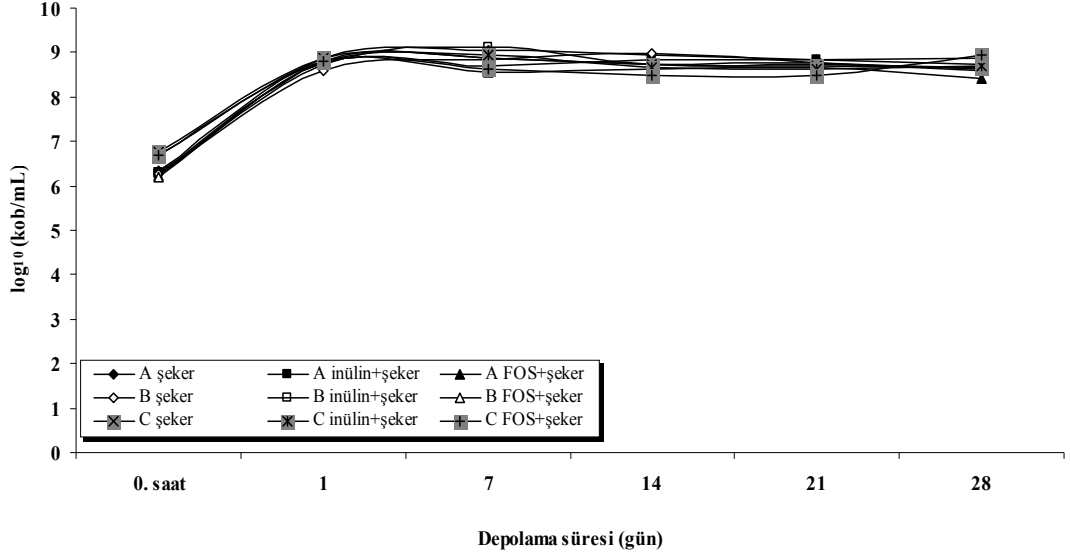


Şekil 4.9. Fonksiyonel bileşen içermeyen şeker ilaveli prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinin *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayılarında depolama süresi boyunca meydana gelen değişim (n=2).



Şekil 4.10. Fonksiyonel bileşen içermeyen şeker ilavesiz prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinde *Lb. casei* Lbc-81 koloni sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler ($\log_{10}$ kob/mL) (n=2).

Sonuç olarak; probiyotik bakteri sayılarındaki değişim dikkate alındığında demineralizasyon işleminin, şeker ilavesinin ve prebiyotik madde katkısının depolama süreci boyunca olumlu ya da olumsuz bir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Ön denemeler ardından, elde edilen bulgular değerlendirildiğinde probiyotik peyniraltı suyu üretiminde prebiyotik bileşen katkısının gerekli olmadığı sonucuna varılmıştır. Buna karşın, hem kimyasal hem de mikrobiyolojik kriterler dikkate alındığında son ürün kalitesine direkt bir etkisi görülmemekle birlikte, %70 oranında demineralize peyniraltı suyu tozu kullanılmasına karar verilmiştir. Bunun gerekçesi, mineral madde varlığının (özellikle kalsiyum ve magnezyum) uzun depolama sürecince tuzlumsu tat gelişimini tetikleme riskinin bulunmasıdır.



Şekil 4.11. Fonksiyonel bileşen içermeyen şeker ilaveli prebiyotik/probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinde *Lb. casei* Lbc-81 koloni sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler ($\log_{10}$ kob/mL) (n=2).

4.2. İzoflavon ve Bitkisel Sterol İlavesinin Fonksiyonel Peyniraltı Suyu İçeceklerinin Temel Niteliklerine Etkisi

4.2.1. Kimyasal Kompozisyona Etkisi

Denemenin ikinci aşamasında ön denemeler sonucunda oluşturulan koşullar uygulanarak nutrasötik fermente içecek geliştirilmesine çalışılmıştır. Bu amaçla; bitkisel sterol (fitosterol) ve soya kökenli izoflavon ilaveli ürünlerde mikrobiyolojik, kimyasal ve fiziksel özellikler belirlenmiştir. Şeker ilave edilmiş ve değişen oranlarda izoflavon (%0.25, 0.50 ve 1.0) ve fitosterol (%0.25, 0.50 ve 1.0) içeren örneklere ait kimyasal bileşim değerleri Çizelge 4.3.'de verilmektedir. Genel olarak ürünlerin kurumadde, protein, laktoz ve kül değerleri sırasıyla %11.94-12.99, %2.23-

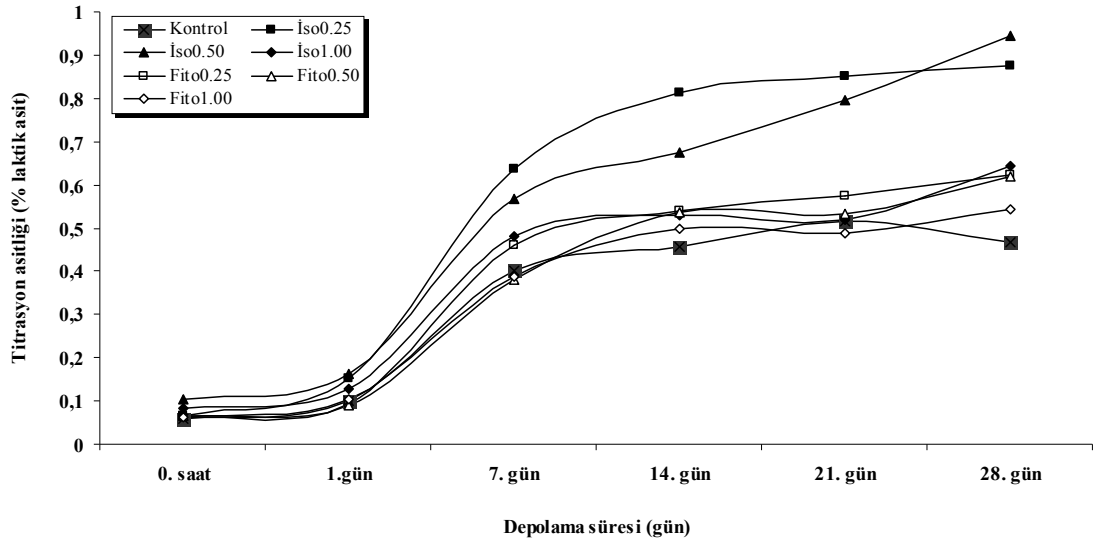
3.06, %3.63-4.32 ve %0.221-0.265 arasında değişmiştir. Beklenildiği üzere katkı maddelerinin kurumadde hariç temel bileşim özellikleri üzerine belirgin bir etkisi olmamıştır.

İzoflavon ve fitosterol ilavesi deneme örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinde artışa yol açmıştır (Şekil 4.12.). Özellikle %0.25 ve %0.50 düzeyinde izoflavon ilave edilen örneklerde depolamanın sonunda (28. gün) titrasyon asitliği değerleri diğer örneklerden çok daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Genel olarak, fitosterol ilave edilen örnekler ile %1.0 oranında izoflavon içeren örnekte titrasyon asitliği değerlerinin oransal olarak düşük olduğu belirlenmiştir. Titrasyon asitliği değerlerindeki artış depolamanın ilk 7 günü içerisinde belirgin olurken daha sonraki depolama günlerinde %0.25 ve %0.50 düzeyinde izoflavon ilave edilen örnekler hariç önemli bir değişim gözlenmemiştir. Fitosterol konsantrasyonu toplam asitlik gelişimini etkilememiştir ($p>0.05$).

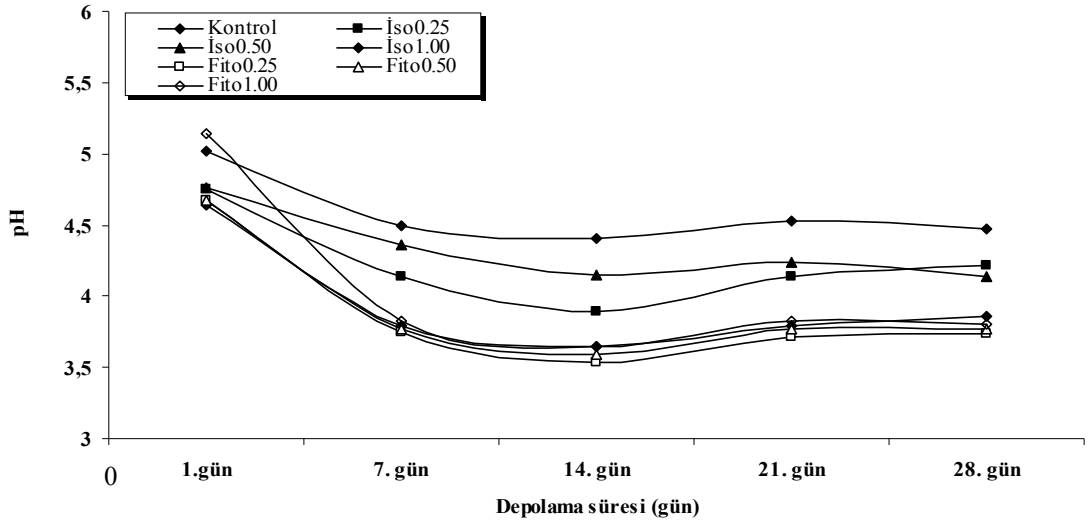
Nutrasötik bileşen katkılı örneklerin pH değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler Şekil 4.13’de sunulmaktadır. pH değerleri depolamanın ilk 7 günü boyunca tüm örneklerde azalmış, ardından ise fazla bir değişim göstermemiştir. Depolamanın başlangıcında %1.0 düzeyinde fitosterol ve izoflavon katkılı örneklerde pH değerleri kısmen daha yüksek bulunurken fitosterol ilavesinin, izoflavon katkılı örneklere oranla pH değerlerinde daha hızlı bir düşüşe neden olduğu görölmüştür.

Çizelge 4.3. Şeker ilave edilmiş ve fonksiyonel bileşen katkısı içeren probiyotik peyniraltı suyu içeceklerine ait kimyasal bileşim değerleri ($X \pm SD$, g/100/mL) (n=2).

	Kurumadde	Protein	Kül	Laktoz
Kontrol	11.94 $\pm$ 0.040 ^a	2.75 $\pm$ 0.290 ^{ac}	0.250 $\pm$ 0.080 ^a	3.94 $\pm$ 0.075 ^a
İso_{0.25}	12.29 $\pm$ 0.795 ^b	2.81 $\pm$ 0.000 ^a	0.233 $\pm$ 0.010 ^{bd}	4.00 $\pm$ 0.062 ^a
İso_{0.50}	12.50 $\pm$ 0.485 ^c	3.06 $\pm$ 0.000 ^b	0.221 $\pm$ 0.060 ^c	3.72 $\pm$ 0.044 ^b
İso_{1.00}	12.99 $\pm$ 0.040 ^d	2.81 $\pm$ 0.260 ^a	0.229 $\pm$ 0.095 ^{bc}	3.95 $\pm$ 0.060 ^a
Fito_{0.25}	12.02 $\pm$ 0.020 ^a	2.23 $\pm$ 0.000 ^c	0.225 $\pm$ 0.075 ^{bc}	4.32 $\pm$ 0.031 ^c
Fito_{0.50}	12.32 $\pm$ 0.070 ^b	2.55 $\pm$ 0.000 ^d	0.235 $\pm$ 0.075 ^d	4.04 $\pm$ 0.030 ^a
Fito_{1.00}	12.57 $\pm$ 0.070 ^c	2.68 $\pm$ 0.020 ^e	0.265 $\pm$ 0.065 ^e	3.63 $\pm$ 0.125 ^b



Şekil 4.12. Şeker ilave edilmiş ve fonksiyonel bileşen katkısı içeren probiyotik peyniraltı suyu içeceklerine ait titrasyon asitliği değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2).

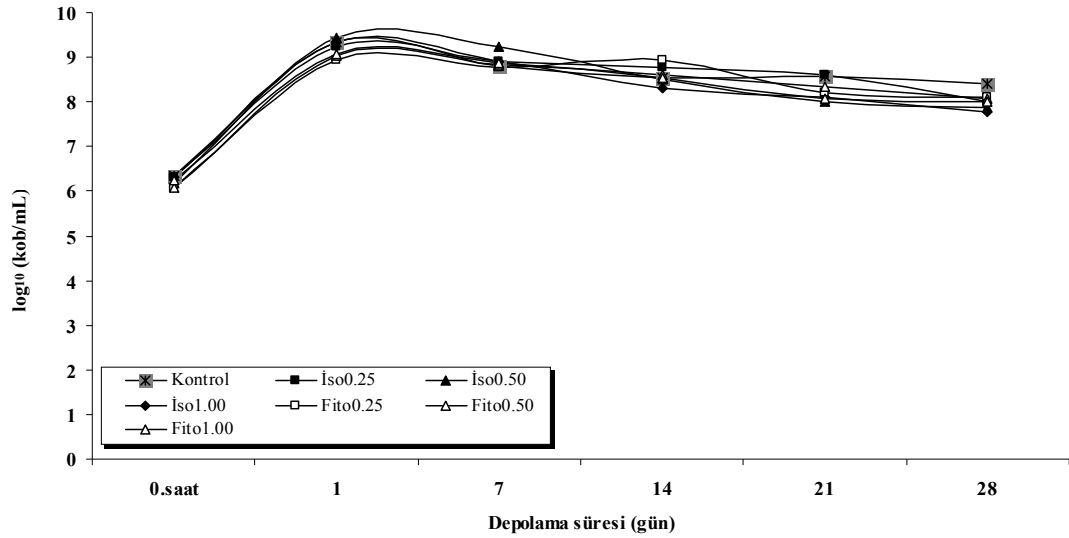


Şekil 4.13. Şeker ilave edilmiş ve fonksiyonel bileşen katkısı içeren probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinin pH değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2).

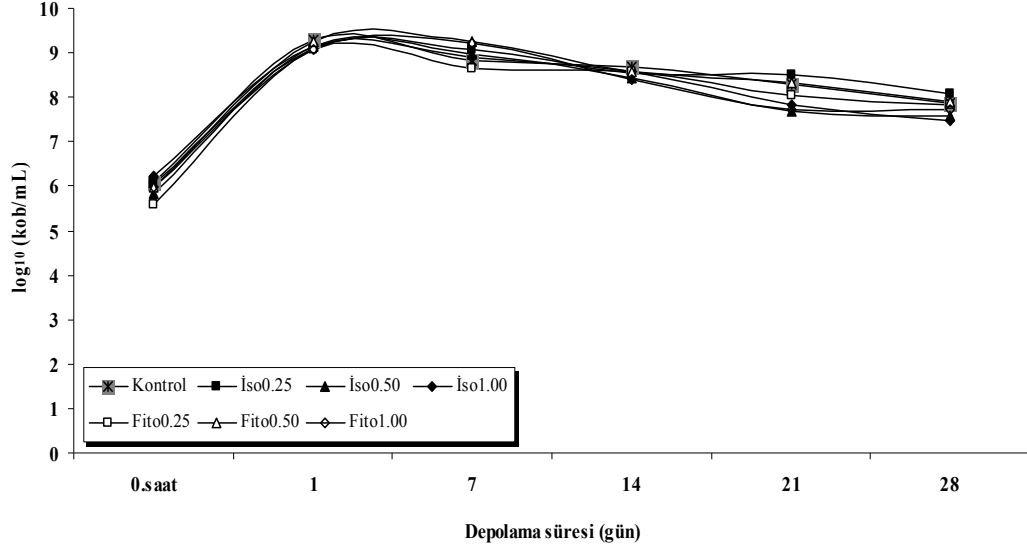
4.2.2. Probiyotik Bakteri Gelişimine Etkileri

İzoflavon ve fitosterol ilavesi fermente peyniraltı suyu içeceklerinde *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayıları üzerinde belirgin bir etki yaratmamıştır (Şekil 4.14.). Tüm örneklerde fermentasyonun başlangıcındaki *Lb. acidophilus* La-5 sayısı 6.07-6.36 log₁₀ kob/mL arasında değişirken depolamanın başlangıcında bu değerler 8.93-9.45 log₁₀ kob/mL aralığına yükselmiştir. Depolama süresi boyunca ilave edilen nutrasötik bileşenlerden ve bileşen konsantrasyonlarından bağımsız olarak tüm örneklerde *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayılarında kısmi bir azalma kaydedilmiştir. Ancak, depolama sürecinin sonunda tüm örneklerde bu probiyotik bakteri sayısı 7.87-8.41 log₁₀ kob/mL aralığında yer almıştır. Benzer sonuçlar *Lb. casei* Lbc-81 koloni sayılarında da gözlenmiştir (Şekil 4.15.). Depolama periyodunun sonunda tüm

örneklerde *Lb. casei* Lbc-81 koloni sayıları *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayılarından kısmen düşük bulunmasına karşın terapötik minimum seviyesinin üzerinde yer almıştır (7.49-8.07 log₁₀ kob/mL). Her iki probiyotik bakterinin soğuk depolama koşullarında gelişim eğilimleri benzer bulunmuştur. Bitkisel sterollerin ya da soya izoflavonlarının *Lb. acidophilus* La-5 ve *Lb. casei* Lbc-81 koloni gelişimi üzerine etkilerine ilişkin literatür bilgisi bulunmamaktadır. Bununla birlikte; Awaisheh ve ark. (2005), fonksiyonel yoğurda %0.0 ile %1.0 arasında değişen konsantrasyonlarda izoflavon ilavesinin *Lb. gasseri* ve *Bifidobacterium infantis* koloni gelişimi üzerine etkilerini inceledikleri araştırmalarında, izoflavon oranının artmasıyla birlikte anılan bakterilerin gelişimin sınırlandığını bulmuştur.



Şekil 4.14. Fonksiyonel bileşen ve şeker ilaveli probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinde *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler (log₁₀ kob/mL) (n=2).



Şekil 4.15. Fonksiyonel bileşen ve şeker ilaveli probiyotik peyniraltı suyu içeceklerinde *Lb. casei* Lbc-81 koloni sayısında depolama süresincemeydana gelen değişimler ($\log_{10}$ kob/ mL) (n=2).

İzoflavonlar, bitkisel difenollerin temel gruplarından birisidir (Setchell 1998) ve fenolik bileşiklerin anti-bakteriyel etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Forstyhe ve Hayes, 1998). Buna karşın; izoflavon bakımından zengin soya filizi tozunun bakteri gelişim ortamına ilave edilmesi durumunda laktobasiller ve bifidobakteriler başta olmak üzere bakteriyel gelişimin teşvik edildiği de bildirilmektedir (De Boever ve ark., 2000). Bu durumun ağırlıklı olarak soya filizi tozunda yer alan oligosakkaritlerin bakteri gelişimi üzerindeki olumlu etkilerinin izoflavonun olumsuz etkilerinden daha baskın olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

İzoflavonun aksine, %0.3 düzeyinde fitosterol ilavesinin *Lb. gasseri* hücre gelişimini teşvik ettiği, *B. infantis*'in ise çok sınırlı düzeyde etkilendiği bulunmuştur (Awaisheh ve ark., 2005). Fitosteroller bitki hücrelerinde membran taşıyım sistemin-

de etkili olduğundan benzer mekanizma ile bakteri hücrelerinin gelişiminin de teşvik edildiği düşünülmektedir (Campbell, 1993).

4.2.3. Sedimentasyon Oluşumu Üzerine Etkileri

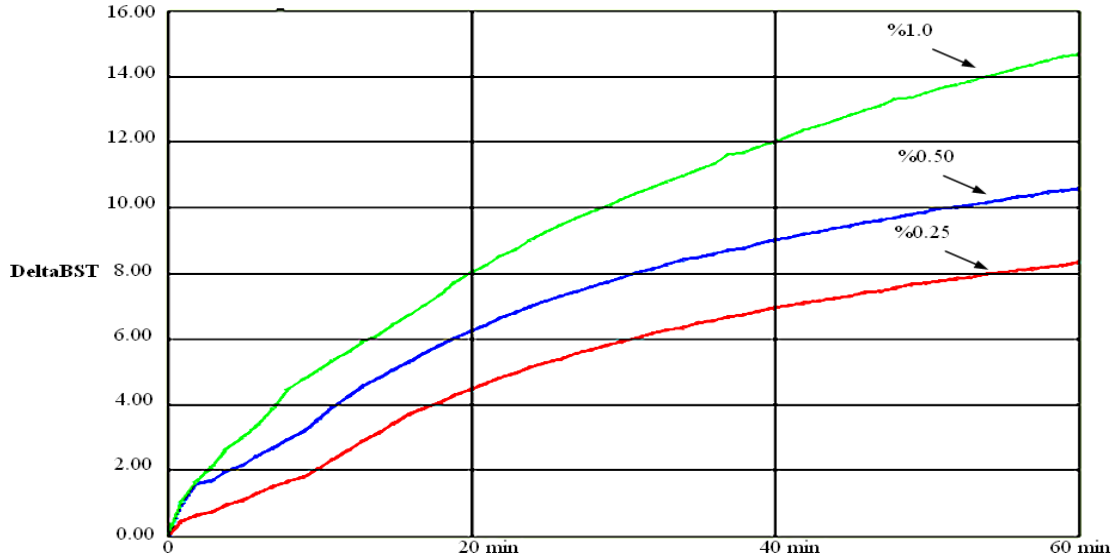
Makromolekül ve/veya nutrasötik bileşen katkılı fermente içeceklerde en belirgin sorunlardan birisi depolama sırasında sedimentasyon oluşumunun gözlenmesidir. Bu sorunun giderilebilmesi için değişik yöntemler bulunmaktadır. Stabilizatör ilavesi, stabilizatör ve homojenizasyon işleminin birlikte uygulanması veya nutrasötik bileşenlerin nanopartiküller halinde ürüne ilave edilmesi en yaygın yöntemler arasında yer almaktadır. Bu çalışma kapsamında sedimentasyonun önlenmesi için stabilizatör kullanılmış ve stabilizatör yüksek devirli bir ultra turrax cihazı ile homojenize edilerek ürüne ilave edilmiştir. Ön denemeler kapsamında kullanılan üründe sediment oluşumunun engellendiği en düşük konsantrasyon belirlenerek çalışmaya devam edilmiştir. Ancak, Şekil 4.16.'da görüldüğü üzere, nutrasötik olarak ilave edilen soy izoflavonun üründe kararlı bir yapı göstermediği ve kullanılan stabilizatörün de sediment oluşumunu engelleyemediği saptanmıştır. Her üç konsantrasyonda da zamana bağlı olarak sediment oluşumunda sürekli bir artış kaydedilmiş ve bu artışın izoflavon konsantrasyonuna bağımlı olduğu belirlenmiştir. İzoflavon katkılı örneklerle ait sedimentasyon tarama grafikleri Şekil 4.17. a-c'de verilmektedir. İlgili grafiklerde üründe zamana bağlı olarak gözlenen sedimentasyon ve berraklaşma bölgeleri net bir şekilde görülebilmektedir. Genel olarak, düşük depolama sıcaklıklarında (<6 °C) peyniraltı suyu içeceklerinin fiziko-kimyasal özelliklerinde zayıflamalar ve bunun doğal sonucu olarak zamana bağlı sediment oluşumu daha yavaş seyretmektedir (Cano-Ruiz ve Ritchter, 1996).

Fitosterol ilaveli ürünlerde ise sedimentasyon gözlenmemekle birlikte bir faz ayrımı tespit edilmiştir. Şekil 4.18. incelendiğinde zamana bağlı olarak sterolün önce yoğunluk farkı nedeniyle yüzeyde birikme eğilimi gösterdiği ardından ise faz ayrım sürecinin bir stabiliteye kavuştuğu görülmektedir. İzoflavon ilavesinde olduğu gibi fitosterol ilavesinin de homojenizasyon ve/veya nanopartikülasyon işlemleri ile ürüne ilavesinin faz ayrımı açısından daha olumlu sonuçlar doğuracağı düşünülmektedir. Aynı örneklerle ait sedimentasyon tarama grafikleri Şekil 4.19 a-c’de verilmektedir.

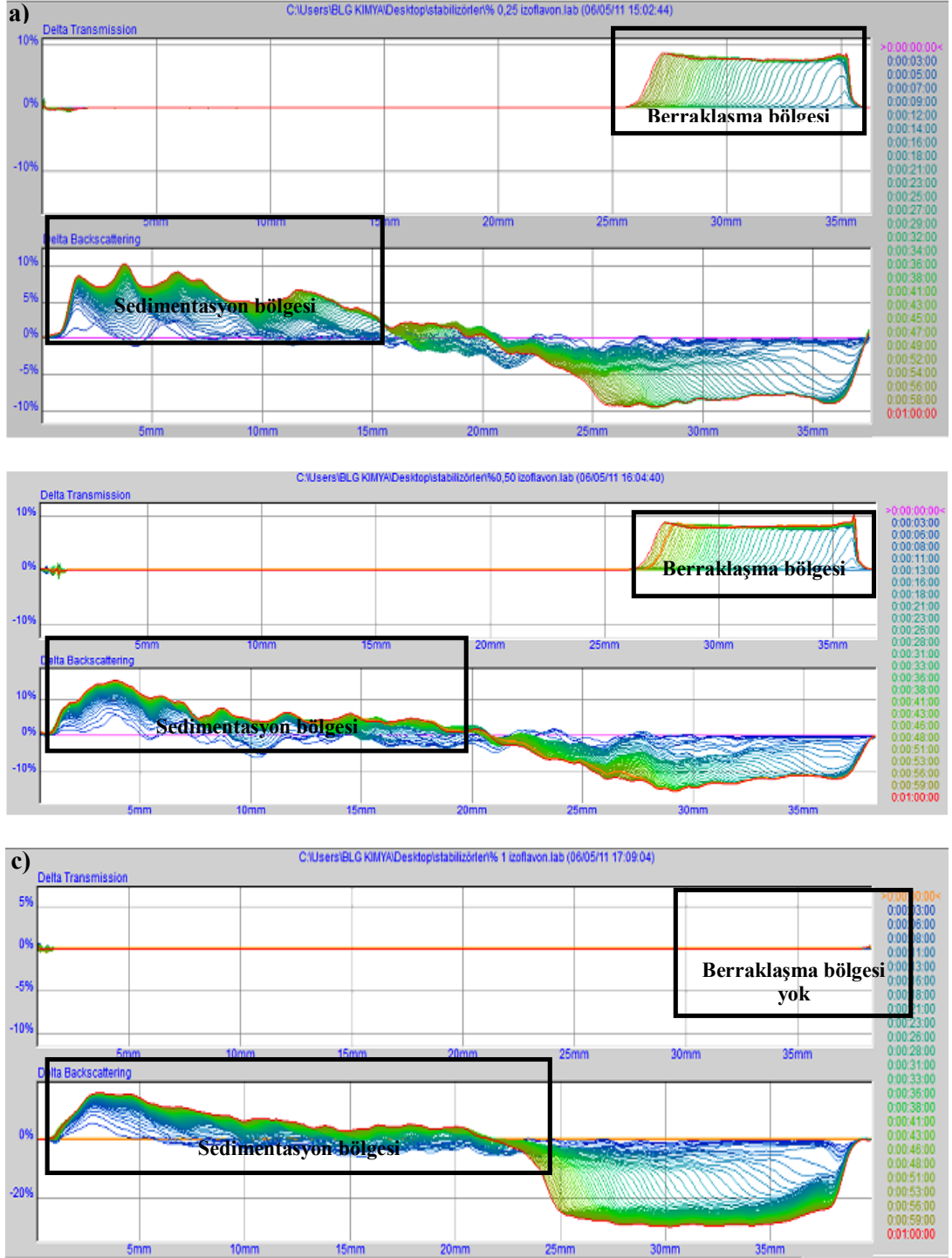
Şeker ilavesi genelde protein içeren içeceklerde proteinlerin stabilizasyonunu ve agregasyona karşı direnci artırmaktadır (Arakawa ve Timasheff, 1982). Bu durum şeker varlığında denatüre proteinlerin yüzey alanının artması ve yüzey geriliminin artışına bağlı denatürasyonun geciktirilmesi ile açıklanmaktadır (Damodaran ve ark., 2007; LaClair ve Etzel, 2009a). Ancak, çalışmamızda şeker ilavesi ısıtma işlem sonrasında gerçekleştiğinden şekerin yukarıda anılan etkisinin ihmal edilebilir düzeyde olduğu varsayılmaktadır.

Depolama süresi boyunca peyniraltı suyu içeceklerinde bulanıklılığın yavaş ancak kararlı bir artış göstermesi çözünür proteinlerin protein agregatlarına dönüşümünün yavaş seyretmesinden kaynaklanmaktadır (LaClair ve Etzel 2009b). Özellikle ısıtma işlem sırasında oluşan protein agregatları denatüre serum proteinleri için bir çekim gücü (nucleation site) oluşturmaktadır. Suda yağ emülsiyonu oluşturan yağ damlacıklarının stabilitesi protein, arap sakızı veya modifiye nişasta gibi yüzey aktif hidrokolloidler aracılığı ile de sağlanabildiğinden bu uygulamaların da pratikte olumlu sonuçlar vereceği düşünülmektedir (Sun ve Gunasekaran, 2009; Taherian ve

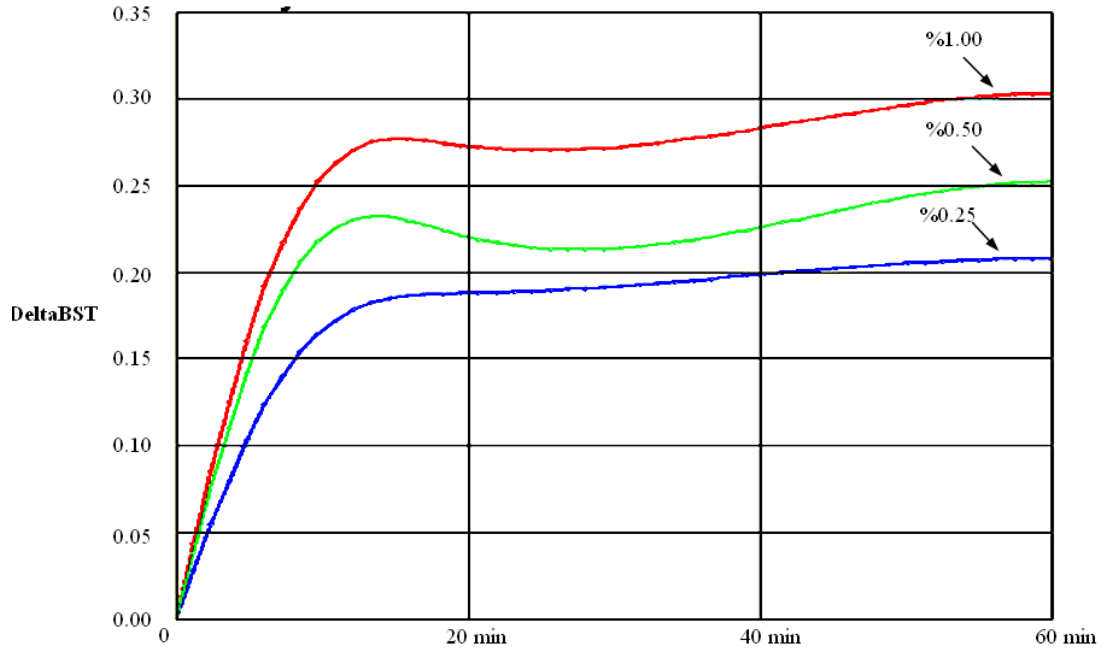
ark., 2008). Yüzey aktif hidrokolloidler yağ ile su ara yüzeyinde adsorbe olmakta ve sıvı fazın yüzey gerilimini azaltmakta, itme kuvvetini artırmakta ve dolayısıyla yağ damlacıklarının yüzeyde birikmesini engellemekte/geciktirmektedir (Surh ve ark., 2006). Çalışmamızda stabilizatör olarak kullanılan hidrokolloidin hidrofobik ve/veya hidrofilik bölgelerinin bir ya da ikisinin yeterli adsorbsiyon etkisi yaratmadığı, bunun sonucunda da faz ayrılmasının oluştuğu belirlenmiştir. Bu noktada daha uygun bir stabilizatör seçimi ile fitosterol ilaveli içeceklerde fiziksel kusurların en aza indirilebileceği düşünülmektedir.



Şekil 4.16. Değişen oranlarda soy-izoflavon katkılı fermente probiyotik peyniraltı suyu içeceğinde sedimentasyon hızı değişimi.



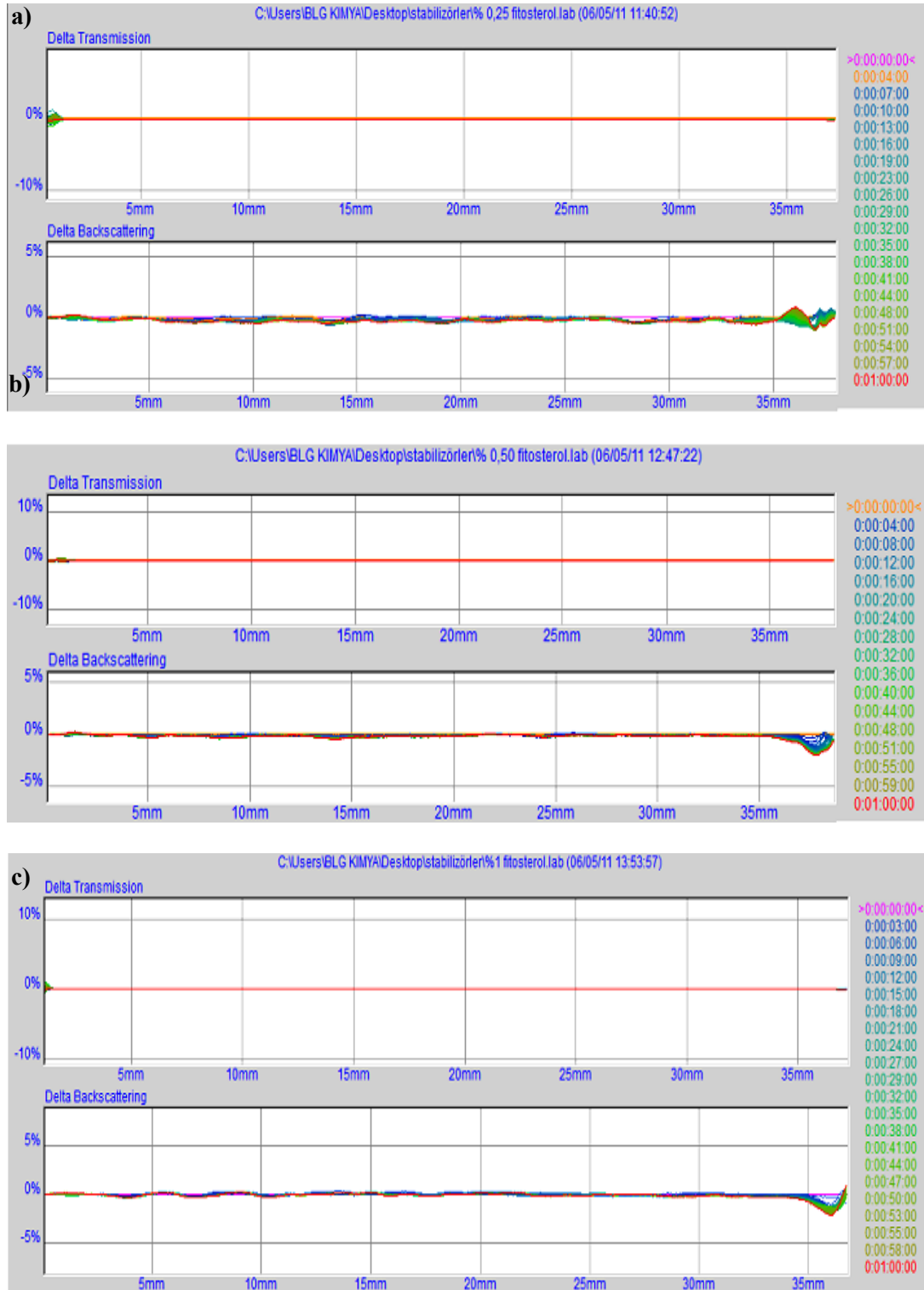
Şekil 4.17. Soy-izoflavon katkılı fermente probiyotik peyniraltı suyu içeceğinde sedimentasyon tarama grafikleri. Soy-izoflavon konsantrasyonları: **a)** %0.25, **b)** %0.50 ve **c)** %1.0.



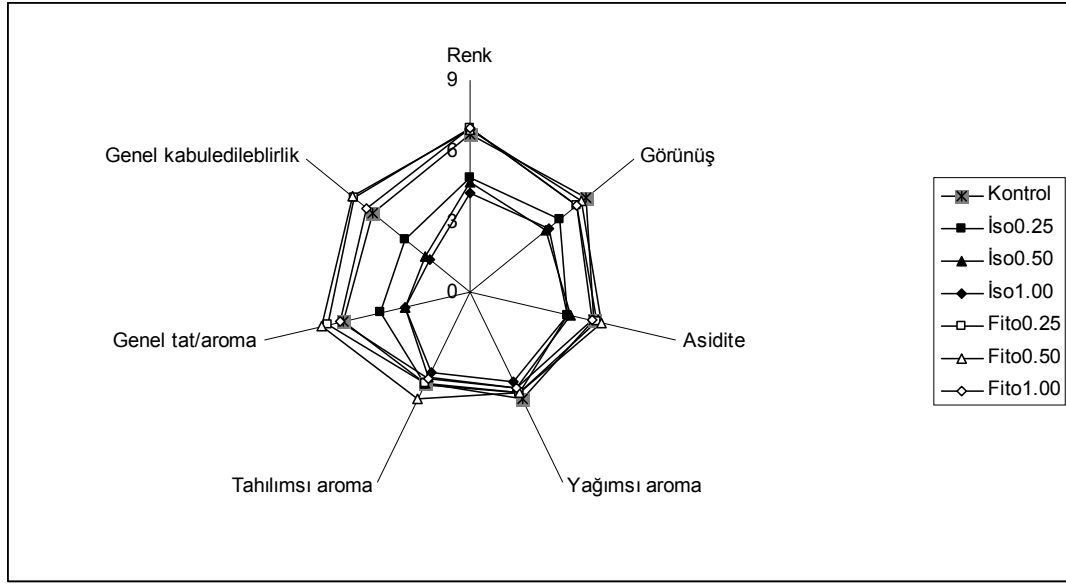
Şekil 4.18. Değişen oranlarda fitosterol katkıli fermente probiyotik peyniraltı suyu içeceğinde sedimentasyon hızı değişimi.

4.2.4. Duyusal Özellikler Üzerine Etkisi

Duyusal değerlendirmeler sonucunda depolama sürecinin başlangıcında soy-izoflavon katkıli örneklerin, yedi farklı değerlendirme kriteri (renk, görünüş, tahılımsı aroma, yağlımsı aroma, asidite, genel tat/aroma ve genel kabuledilebilirlik) dikkate alındığında kontrol ve fitosterol katkıli örneklerden daha düşük değerler aldığı görülmektedir (Şekil 4.20.).

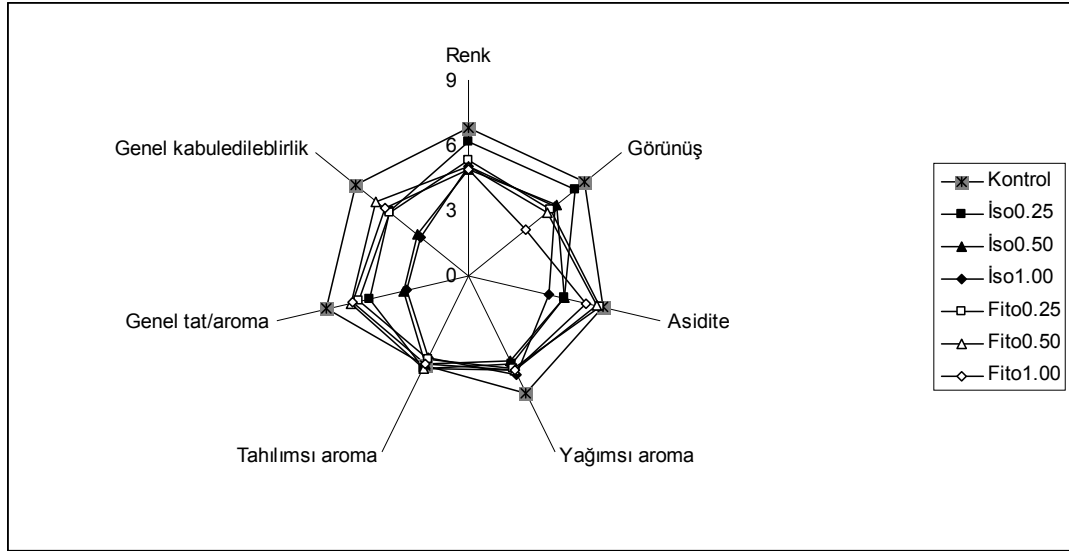


Şekil 4.19. Fitosterol katkılı fermente probiyotik peyniraltı suyu içeceğinde sedimentasyon tarama grafikleri. Fitosterol oranları: a) %0.25, b) %0.50 ve c) %1.00



Şekil 4.20. Depolama sürecinin başlangıcında (1. gün) deneme örneklerine ait duyuşal değerlendirme sonuçları.

Genel tat/aroma özellikleri bakımından %0.50 ve %1.00 izoflavon katkılı örnek birbirine yakın ancak diğer örneklerden belirgin düzeyde düşük duyuşal skorlara sahip olmuştur. İzoflavon katkılı örneklerde sedimentasyon varlığı duyuşal panel tarafından bir kusur olarak algılanmamasına karşın belirgin bir acılık ürünün beğenilirliğini sınırlamıştır. Buna karşın; fitosterol ilaveli örnekler tüm duyuşal değerlendirme kriterleri açısından en yüksek puanları almıştır. Panelistlerin tamamı fitosterol katkılı ürünleri tüketilebilir bulmuşlardır. Depolamanın 28. gününde ise özellikle sterol damlacıklarının faz ayrılması bir sorun olarak algılanmış ve renk ile görünüş puanları düşmüştür (Şekil 4.21). Bununla birlikte; fitosterol katkılı örneklerin genel tat/aroma ve genel kabuledilebilirlik puanları izoflavon katkılı örneklerden yüksek ve kontrol örneğine yakın bulunmuştur.



Şekil 4.21. Depolama sürecinin sonunda (28. gün) deneme örneklerine ait duysal değerlendirme sonuçları.

BÖLÜM V

5. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Bu çalışmanın temel amacı tekno-fonksiyonel özellikleri üstün bir sütçülük atığı olan peyniraltı suyunu fonksiyonel bir içecek formuna dönüştürme olanaklarını araştırmaktır. Bu amaçla; iki farklı fonksiyonel bileşen (soya kökenli izoflavon ve bitkisel sterol) ve iki farklı probiyotik bakteri (*Lb. acidophilus* La-5 ve *Lb. casei* Lbc-81) kullanılarak rekonstitüye fermente peyniraltı suyu üretilmiştir.

Elde edilen bulgular doğrultusunda probiyotik bakterilerin yeni üründe canlılıklarını 28 günlük soğuk depolama süresince koruyabildiği saptanmıştır. Probiyotik bakterilerin gelişimini teşvik etmek amacıyla ön denemeler kapsamında ürüne ilave edilen inülin ve fruktooligosakkarit (FOS)'un etkili olmadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde; demineralizasyon oranının da son üründe probiyotik bakteri gelişimini olumlu ya da olumsuz etkilemediği anlaşılmış ancak mineral maddelerden kaynaklanabilecek olası duysal bozuklukların önüne geçebilmek amacıyla %70 oranında demineralize edilen rekonstitüye peyniraltı suyu kullanılarak denemeye devam edilmiştir.

Peyniraltı suyunun besleyici özelliklerinin yanı sıra fonksiyonel niteliklerini de geliştirmek amacıyla kullanılan fitoterol ve soya kökenli izoflavon probiyotik bakteri

gelişimi üzerinde olumsuz etki yaratmamıştır. Gerek bakteri gelişimi gerekse bakteriyel metabolizma fonksiyonel bileşen ilavesinden etkilenmemiştir. Ancak, izoflavon katkılı örneklerde zamana bağlı sedimentasyon oluşumu gözlenmiştir. Sediment oluşumu duyusal değerlendirme paneli tarafından kabuledilemez bir kusur olarak algılanmamakla birlikte, izoflavon konsantrasyonundaki artış ile birlikte özellikle depolamanın ilerleyen aşamalarında ortaya çıkan tat değişimi bu ürünün beğenilirliğini kısıtlamıştır. Fitosterol ilavesi ile üretilen üründe ise özellikle yüksek konsantrasyonda (%1.0) kısmi bir faz ayrılması meydana gelmiştir.

Sonuç olarak; rekonstitüye fonksiyonel fermente peyniraltı suyu üretiminde fitosterol kullanımın teknolojik olarak mümkün olduğu, izoflavon kullanımının ise düşük konsantrasyonlarda mümkün görülmekle birlikte %0.5'in üzerindeki konsantrasyonlarda üründe meydana gelen anormal tat gelişimi nedeniyle önerilemeyeceği sonucuna varılmıştır. Gerek fitosterol gerekse izoflavon katkılı örneklerde sedimentasyon ve/veya faz ayrılmasının engellenmesi için fonksiyonel bileşenlerin yüksek hızda homojenize edilerek ya da nanopartiküller halinde ürüne ilave edilmesinin pratikte olumlu sonuçlar doğuracağı düşünülmektedir. Ayrıca, sonraki çalışmalar kapsamında fitosterol ve izoflavonun farklı depolama koşulları karşısında stabilitelerini ve fonksiyonel özelliklerini ne ölçüde koruyabildiklerinin de araştırılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Agrawal, V., Usha, M. S. and Mital, B. K. 1986. Preparation and evaluation of acidophilus milk. *Journal of Dairy Research*, 5: 33-38.

Agresearch. 2007. Selenium-enriched milk straight from the cow. www.agresearch.co.nz/publications/intouch/AgResearch_News_Dec2007.pdf. (Erişim: 31.07.2009).

Almeida, K. E., Tamime, A. Y. and Oliveria, M. N. 2008. Acidification rates of probiotic bacteria in Minas frescal cheese whey. *LWT-Food Science and Technology*, 41: 311-316.

Anonim. 1981. iğ st standardı. TS 1018. Trk Standartları Enstits. Ankara.

Anonymous. 2005. U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture. Dietary Guidelines for Americans, 6th edn. Washington DC: U.S. Government Printing Office.

Anonymous. 2007. Functional foods. www.just-food.com/store/product.aspx?id = 47652. (Erişim: 01.09.2009).

APHA. 1993. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. American Public Health Association, Washington, USA, p. 546.

Arab, K., Rossary, A., Soulere, L. and Steghens, J. P. 2006. Conjugated linoleic acid, unlike other unsaturated fatty acids, strongly induces glutathione synthesis without any lipoperoxidation. *British Journal of Nutrition*, 96: 811-819.

Arakawa, T. and Timasheff, S. 1982. Stabilization of protein structure by sugars. *Biochemistry*, 21(25): 6536-6544.

Awaisheh, S. S., Haddadin, M. S. Y. and Robinson, R. K. 2005. Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into a fermented milk. *International Dairy Journal*, 15: 1184-1190.

Barth, R. 2001. From the original idea of a product to the introduction into the market and finally to the creation of a real brand name. In: Herbertz G, (ed.) *Proceedings of the 3rd International Whey Conference on the importance of whey and whey components in food and nutrition*, B.Behr's Verlag, Munich, p. 147-156.

- Bisig, W., Eberhard, P., Colomb, M. and Rehberger, B. 2007. Influence of processing on the fatty acid composition and the content of conjugated linoleic acid in organic and conventional dairy products – a review. *Lait*, 87: 1-19.
- Bolduc, M. P., Raymond, Y., Fustier, P., Champagne, C. P. and Vuillemand, J. C. 2006. Sensitivity of bifidobacteria to oxygen and redox potential in non-fermented pasteurized milk. *International Dairy Journal*, 16: 1038-1048.
- Boylston, T. D. and Beitz, D. C. 2002. Conjugated linoleic acid and fatty acid composition of yoghurt produced from milk of cows fed soy oil and conjugated linoleic acid. *Journal of Food Science*, 67: 1973-1978.
- Britten, M. and Giroux, H. J. 2001. Acid-induced gelation of whey protein polymers: effect of pH and calcium concentration during polymerization. *Food Hydrocolloids*, 15: 609–617.
- Campbell, N. A. 1993. *Biology*. 3rd ed. California: The Benjamin Cummings Publishing Company Inc., California, p. 330.
- Cano-Ruiz, M. E. and Ritcher, R. L. 1996. Changes in the physico-chemical properties of retort-sterilized dairy beverages during storage. *Journal of Dairy Science*, 81: 2116-2123.
- CFR21. 2008. Food and Drug Administration 21CFR101.54 Code of Federal Regulations. Washington DC, US Government Printing Office.
- Champagne, C. P. and Mollgaard, H. 2008. Production of probiotic cultures and their addition in fermented foods. In: Farnworth, E. R. (ed.) *Handbook of fermented functional foods*, CRC Press, Boca Raton, p. 512-532.
- Champagne, C. P. 2009. Some technological challenges in the addition of probiotic bacteria to foods. In: Charalampopoulos, D. and Rastall, D. (eds) *Prebiotics and probiotics science and technology*, Springer Verlag, New York, p. 761-804.
- Crowley, L. 2008. Danisco meets growing South American demand for probiotics. [www.nutraingredients-usa.com/Industry/Danisco-meetsgrowing-South-American demand - for-probiotics](http://www.nutraingredients-usa.com/Industry/Danisco-meetsgrowing-South-American-demand-for-probiotics). (Erişim: 25.08.2009).
- Damodaran, S., Parkin, K. and Fennema, O. 2007. *Fennema's Food Chemistry*. 4th ed., CRC/Taylor and Francis, Boca Raton, Fla., p. 540.
- Dave, R. I. and Shah, N. P. 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7: 31-41.
- De Boever, P., Deplancke, B. and Verstraete, J. 2000. Fermentation by gut microbiota cultured in a simulator of the human intestinal microbiota ecosystem is improved by supplementing a soy germ powder. *Journal of Nutrition*, 130: 2599-2606.

Donnelly, C., Olsen, A. M., Lewis, L. D., Eisenberg, B. L., Eastman, A. and Kinlaw, W. B. 2009. Conjugated linoleic acid (CLA) inhibits expression of the Spot 14 (THRSP) and fatty acid synthase genes and impairs the growth of human breast cancer and liposarcoma cells. *Nutrition and Cancer*, 61: 114-122.

Drgalic, I., Tratnik, L. and Bozanic, R. 2005. Growth and survival of probiotic bacteria in reconstituted whey. *Lait*, 85: 171-179.

EFSA. 2009. European food safety association, scientific opinion: plant stanols and plant sterols and blood LDL cholesterol. *The EFSA Journal*, 175: 1-9.

Elli, M., Zink, R., Reniero, R. and Morello, L. 1999. Growth requirements of *Lactobacillus johnsonii* in skim milk and UHT milk. *International Dairy Journal*, 9: 507-513.

Etzel, M. 2004. Manufacture and use of dairy protein fractions. *Journal of Nutrition*, 996S-1002S.

FAO. 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf. (Erişim: 21.07.2009).

FDA (U.S. Food and Drug Administration). 2009. Code of Federal Regulations, Title 21, Volume 2, <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=101.83>. (Erişim: 21.07.2009).

Fletcher, A. 2006. Chr Hansen expands US dairy cultures production. <http://www.dairyreporter.com/Industry-markets/Chr-Hansen-expands-US-dairy-cultures-production>. (Erişim: 20.08.2009).

Forsythe, S. J. and Hayes, P. R. 1998. Food Hygiene, Microbiology and HACCP. 3rd ed., Apsen Publishers Inc., Maryland, p. 400.

Gacula, M.C. and Singh, J. 1984. Statistical Methods in Food and Consumer Research. Academic Press, London, p. 99-140.

Gibson, G. R. and Williams, C. M. 2000. Functional Foods: Concept to Product. Woodhead Publishing, Cambridge, p. 374.

Gobbetti, M., Minervini, F. and Rizzello, C. G. 2004. Role of angiotensin I-converting enzyme inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. *International Journal of Dairy Technology*, 57: 173-188.

Gomes, A. M. P. and Malcata, F. X. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 139-157.

Gruenwald, J. 2009. Fortification of beverages with products other than vitamins and minerals. In: Paquin, P. (ed.), Functional and speciality beverage technology, CRC Pres, New York, p. 92-106.

Halliwell, D. E. 2002. Hands up for probiotics! The mechanism for health benefits is unclear, but interest remains strong. *World of Food Ingredients*, March: 46-50.

Hansel, B., Nicole, C., Lalanne, F., Tondou, F., Lassel, T., Donazollo, Y., Ferrières, J., Krempf, M., Schlienger, J. L., Verges, B., Chapman, J. M. and Bruckert, E. 2007. Effect of low fat fermented milk enriched with plant sterols on serum lipid profile and oxidative stress in moderate hypercholesterolemia. *American Journal of Clinical Nutrition*, 86: 790-796.

Hattingh, A. L. and Viljoen, B. C. 2001. Yoghurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11: 1-17.

Heller, L. 2008. Probiotics grow on innovation, Datamonitor. <http://www.meatprocess.com/Product-Categories/Ingredients-and-additives/Probioticsgrow-on-innovation-Datamonitor>. (Erişim: 30.08.2009).

Hernandez-Mendoza, A., Robles, V. J., Angulo, J. O., de la Cruz, J. and Garcia, H. S. (2007). Preparation of a whey-based probiotic product with *Lactobacillus reuteri* and *Bifidobacterium bifidum*. *Food Technology and Biotechnology*, 45: 27-31.

Hilliam, M. 2004. Healthier dairy. *World Food Ingredients*, September: 52-54.

Holm, F. 2001. Gut health. A Flair-Flow 4 Synthesis Report, Denmark.

I.D.F. 1992. General Standard of Identity for Fermented Milks, International Dairy Federation, Brussels, p. 163.

Janer, C., Pelaez, C. and Requena, T. 2004. Caseinomacropeptide and whey protein concentrate enhance *Bifidobacterium lactis* growth in milk. *Food Chemistry*, 86: 263-267.

Jelen, P. 2009. Whey-based functional beverages. In: Paquin, P. (ed.) *Functional and speciality beverage technology*. CRC Press, New York, p. 259-296.

Jelicic, I., Botanic, R. and Tratnik, R. 2008. Whey based beverages-new generation of dairy products. *Mljekarstvo*, 58: 257-274.

Jones, P. J., Ntanos, F. Y., Raeini-Sarjaz, M. and Vanstone, C. A. 1999. Cholesterol-lowering efficacy of a sitostanol-containing phytosterol mixture with a prudent diet in hyperlipidemic men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69: 1144-1150.

Kailasapathy, K. and Rybka, S. 1997. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp.-their therapeutic potential and survival in yoghurt. *Australian Journal of Dairy Technology*, 52: 28-35.

LaClair, C. E. and Etzel, M. R. 2009a. Ingredients and pH are key to clear beverages that contain whey protein. *Journal of Food Science*, 75(1): C21-C27.

LaClair, C. E. and Etzel, M. R. 2009b. Turbidity and protein aggregation in whey protein beverages. *Journal of Food Science*, 74(7): C526-C535.

Law, M. 2000. Plant sterol and stanol margarines. *British Medical Journal*, 320: 861-864.

Lawless, H.T. and Hetmann H. 1999. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practice*. Apsen Publishing Inc., Maryland, p. 450.

Lawson, R. E., Moss, A. R. and Givens, D. I. 2001. The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acid to man's diet: a review. *Nutrition Research Review*, 14: 153-172.

Leatherhead Food International. 2006. Health-related and functional foods show year-on-year growth. *Food News*, 40: 2.

Lin, Y. T. 2003. Influence of lactic cultures, linoleic acid and fructo-oligosaccharides on conjugated linoleic acid concentration in non-fat set yoghurt. *Australian Journal of Dairy Technology*, 58: 11-14.

Locascio, M.M., Alesso, R., Morata, V.I. and Gonzalez, S.N. 2004. Medium for differential enumeration of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* from lyophilized mixed cultures. In: Spencer, J.F.T. and Ragout de Spencer, A.L. (eds.) *Methods in biotechnology: environmental microbiology: methods and protocols*, Vol 16. Humana Press, New York, p. 257-261.

Maity, T. K., Kumar, R. and Misra, A. K. 2008. Development of healthy whey drink with *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Propionibacterium freudenreichii* subsp *shermanii*. *Mljekarstvo*, 58: 315-325.

Martinez-Villaluenga, C., Frias, J., Gomez, R. and Vidal-Valverde, C. 2006. Influence of addition of raffinose family oligosaccharides on probiotics survival in fermented milk during refrigerated storage. *International Dairy Journal*, 16: 768-774.

Mason, P. 2001. Isoflavones. *The Pharmaceutical Journal*, 266: 16-19.

Matijevic, B., Botanic, R., Tratnik, L. and Jelcic, I. 2008. The influence of whey protein concentrate on growth and survival of probiotic bacteria in whey. *Mljekarstvo*, 58: 243-255.

Messina, M. J. 1999. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70: 439-450.

Milner, J. A. and Alison, R. G. 1999. The role of fat in child nutrition and development: summary of an ASNS workshop. *Journal of Nutrition*, 129: 2094-2105.

O'May, G. A. and Macfarlane, G. T. 2005. Probiotic efficacy: are the claims justified? In: Tamime, A.Y. (ed.) *Probiotic dairy products*. Blackwell Publishing, London, p. 138-166.

Østlie, H. M., Helland, M. H. and Narvhus, J. A. 2003. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 87: 17-27.

Ottaway, B. 2009. Fortification of beverages with vitamins and minerals. In: Paquin, P. (ed.) Functional and speciality beverage technology. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, p. 71-91.

Oukhatar, N., Peres, J. M., Bouhallab, S., Neuville, D., Bureau, F., Bouvard, G., Arhan, P. and Bougle, D. 2002. Bioavailability of caseinophosphopeptide-bound iron. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 140: 290–294.

Özer, B. and Kırmaç, H.A. (2010). Functional milks and dairy beverages. International Journal of Dairy Technology, 63(1): 1-15

Pavunc, A. L., Turk, J., Kos, B., Beganovic, J., Frece, J., Mahnet, S., Kirin, S. and Suskovic, J. 2009. Production of fermented probiotic beverage from milk permeate enriched with whey retentate and identification of present lactic acid bacteria. Mljekarstvo, 59: 11-19.

Peter, S., Wand, R. and Jelen, P. 1996. Heat stability and sensory quality of protein-standardized 2% fat milk. Milchwissenschaft, 51: 611-615.

Popa, D. and Ustunol, Z. (2011). Influence of sucrose, high fructose corn syrup and honey from different floral sources on growth and acid production by lactic acid bacteria and bifidobacteria. International Journal of Dairy Technology, 64(2): 247-253)

Pripp, A. H., Sorensen, R., Stepaniak, L. and Sorhaug, T. 2006. Relationship between proteolysis and angiotensin-I-converting enzyme inhibition in different cheeses. LWT Food Science and Technology, 39: 677-683.

Reddy, R., Lilie, H., Rudolph, R. and Lange, C. 2005. L-arginine increases the solubility of unfolded species of hen egg white lysozyme. Protein Science, 14(14): 929-935.

Reid, G., Jass, J., Sebulsky, M. T. ve McCormick, J. K. 2003. Potential uses of probiotics in clinical practice. Clinical Microbiological Review, 16: 658-672.

Richardson, D. P. 1996. Functional foods – shades of grey: an industry perspective. Nutrition Reviews, 54: 174-185.

Romero, C., Lozano, J., Sancho, J. and Giraldo, G. 2007. Thermal stability of beta-lactoglobulin in the presence of aqueous solution of alcohol and polyols. International Journal of Biological Macromolecules, 40(5): 423-428.

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

Rybka, S. 1994. The enumeration of *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidobacterium* species in yoghurt. B.Sc. Dissertation. University of New SouthWales, Sydney, Australia.

Saini, S.P.S., Bains, G.S. and Jain, S.C. 1993. Flavour of iron fortified buffalo milk. *International Dairy Journal*, 16: 1477-1482.

Samuel, D., Kumar, T., Ganesh, G., Jayaraman, G., Yang, P., Chang, M., Trivedi, V., Wang, S., Hwang, K., Chang, D. and Yu, C. 2000. Proline inhibits aggregation during protein refolding. *Protein Science*, 9(2): 344-352.

Saxelin M, Corpela R and Marya-Makinen A. 2003. Functional dairy products. In: Smit, G. (ed.) *Dairy processing*. Woodhead Publishing, Cambridge, p. 229-260.

Setchell, K. D. R. 1998. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology and implication for human health of soy isoflavons. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68: 1333S-1346S.

Shamala, T.R., Shri-Jyothi, Y., and Saibaba, P. (2000) Stimulatory effect of honey on multiplication of lactic acid bacteria under *in vitro* and *in vivo* conditions. *Applied Microbiology*, 30: 453-455.

Sharma, R. 2005. Market trends and opportunities for functional dairy beverages. *Australian Journal of Dairy Technology*, 60: 196-199.

Shin, H. S., Lee, J. H., Petska, J. J. and Ustunol, Z. 2000. Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp. in skim milk containing oligosaccharides and inulin. *Journal of Food Science*, 65: 884-887.

Silva, M. R., Dias, G., Ferreira, C. L. L. F., Franceschini, S. C. C. and Costa, N. M. B. 2008. Growth of preschool children was improved when fed an iron-fortified fermented milk beverage supplemented with *Lactobacillus acidophilus*. *Nutrition Research*, 28: 226-232.

Simova, E., Ivanov, G. and Simov, Z. 2008. Growth and activity of Bulgarian yoghurt starter culture in iron-fortified milk. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35: 1109-1115.

Singh, G., Arora, S., Sharma, G. S., Sindhu, J. S., Kansal, V. K. and Sangwan, R. B. 2007. Heat stability and calcium bioavailability of calcium-fortified milk. *LWT-Food Science and Technology*, 40: 625-631.

Stephenie, W., Kbeir, B. M., Shuhimi, M., Rosfarizan, M. and Yazid, A. M. 2007. Growth and optimization of a probiotic candidate, *Bifidobacterium pseudocatenilatum* G4, in milk medium using response surface methodology. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 12: 106-113.

Sun, C. and Gunasekaran, S. 2009. Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolat with xanthan gum. *Hydrocolloids*, 23(11): 165-174.

Surh, J., Ward, L. S. and McClements, D. J. 2006. Ability of conventional and nutritionally modified whey protein concentrates to stabilize oil-in-water emulsions. *Food Research International*, 39: 761-777.

Taherian, A. R., Fustier, P. T., Britten, M. and Ramaswamy, H. S. 2008. Rheology and stability of beverage emulsions in the presence and absence of weightening agents: a review. *Food Biophysics*, 3: 279-286.

Tripathi, V. and Jha, Y.K. 2004. Development of whey beverages with antagonistic characteristics and probiotics. *International Journal of Food Properties*, 7(2): 261-272.

Vachon, H.J. (1998). Development and Properties of a Drinkable Yogurt Shake Sweetened with Honey. MS Thesis. Michigan State University, East Lansing, Michigan, USA.

Woyengo, T.A., Ramprasath, V.R. and Jones, P. J. H. 2009. Anticancer effects of phytosterols. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63: 813-820.

Xu, S., Bolyston, T. D. and Glatz, B. A. 2005. Conjugated linoleic acid content and organoleptic attributes of fermented milk products produced with probiotic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9064-9072.

Zhao, D., Martin, B. R. and Weaver, C. M. 2005. Calcium bioavailability of calcium carbonate fortified soymilk is equivalent to cow's milk in young women. *Journal of Nutrition*, 135: 2379-2382.