



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**ISABELLA ÜZÜM (*Vitis labrusca* L.) SUYU İLE
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ PROBİYOTİK YULAF SÜTÜ
İÇECEĞİ ÜRETİMİ VE DEPOLAMA SÜRESİNCE
PROBİYOTİK BAKTERİLERİN CANLILIĞININ
BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Hande Didar SÖZBİR

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İzmir
2021

T.C.
Ege Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

**ISABELLA ÜZÜM (*Vitis labrusca* L.) SUYU İLE
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ PROBİYOTİK YULAF SÜTÜ
İÇECEĞİ ÜRETİMİ VE DEPOLAMA SÜRESİNCE
PROBİYOTİK BAKTERİLERİN CANLILIĞININ
BELİRLENMESİ**

Hande Didar SÖZBİR

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülten GÜNDÜZ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

İzmir
2021

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi Tezi olarak sunduğum “Isabella Üzüm (*Vitis labrusca* L.) Suyu ile Zenginleştirilmiş Probiyotik Yulaf Sütü İçeceği Üretimi ve Depolama Süresince Probiyotik Bakterilerin Canlılığının Belirlenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

14 / 07 / 2021

Hande Didar SÖZBİR

ÖZET

ISABELLA ÜZÜM (*Vitis labrusca* L.) SUYU İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ PROBİYOTİK YULAF SÜTÜ İÇECEĞİ ÜRETİMİ VE DEPOLAMA SÜRESİNCE PROBİYOTİK BAKTERİLERİN CANLILIĞININ BELİRLENMESİ

SÖZBİR, Hande Didar

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülten GÜNDÜZ

Haziran 2021, 272 sayfa

Bu çalışma kapsamında, süt içeren probiyotik ürünlere alternatif olarak üretilen yulaf sütüne Isabella (*Vitis labrusca* L.) üzüm suyu ve probiyotik özellikteki *Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Lactobacillus rhamnosus* LGG kültürleri ilave edilmesi ile gluten içermeyen bitkisel probiyotik ürün geliştirilmesi amaçlanmıştır. Isabella üzüm suyunun üretim yöntemi, farklı yöntemlerle üretilen üzüm sularının antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin karşılaştırılması ile belirlenmiştir. Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği üretimi için *L. acidophilus* La-5 ve *L. rhamnosus* LGG kültürleri ayrı ayrı kullanılarak optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve optimize edilmiş koşullarda üretilen ürünlerin depolama süresince probiyotik bakterilerin canlı kalma durumları ile ürünlerin fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri araştırılmıştır.

Yapılan çalışma sonucunda, Isabella üzüm suyunun %0,781-3,125 aralığındaki MİK değerlerinde *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes* ve *Bacillus cereus* üzerinde inhibisyon etkisinin olduğu, *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 probiyotik bakterileri için ise MİK değerlerinin %50 olduğu tespit edilmiştir. Probiyotik kültürler üzerindeki inhibisyon etkisinin yüksek olmaması nedeniyle Isabella üzüm suyunun probiyotik ürün geliştirilmesinde uygun olduğu belirlenmiştir. Yapılan optimizasyon çalışmasında, *L. rhamnosus* LGG için optimum fermantasyon süresinin 24 saat olduğu ve yulaf sütüne (%6,74 yulaf) %25 üzüm suyu ve %1,53 inülin eklenmesi ile oluşturulan ortamın optimum koşul olduğu

bulunmuştur. Prebiyotik olarak inülin kullanımının *L. acidophilus* La-5 gelişimini veya canlılığını sürdürmesi üzerinde olumlu etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Fermantasyon ortamına ilave edilen kalsiyum karbonatın ise *L. acidophilus* La-5'in yüksek sayılarda canlı kalmasını sağladığı saptanmıştır. *L. acidophilus* La-5 içeren ürün için fermantasyon süresinin 8 saat olduğu, optimum konsantrasyonların ise yulaf sütüne (%5,24 yulaf) %24,99 üzüm suyu ve 197,35 mg Ca⁺²/100 ml yulaf sütü olduğu bulunmuştur. Çalışma sonucunda, üretim koşulları optimize edilmiş olan Isabella üzüm suyuyla zenginleştirilmiş yulaf sütü içeceğinin 4°C'de *L. rhamnosus* için en az 21 gün, *L. acidophilus* için en az 14 güne kadar probiyotik özelliğini koruduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Probiyotik, Fonksiyonel İçecek, Yulaf Sütü, Isabella Üzümlü, Optimizasyon

ABSTRACT**PRODUCTION OF PROBIOTIC OAT MILK ENRICHED WITH ISABELLA GRAPE (*Vitis labrusca* L.) JUICE AND DETERMINATION OF SURVIVAL OF PROBIOTIC BACTERIA DURING STORAGE PERIOD**

SÖZBİR, Hande Didar

MSc. in Food Eng.

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gülten GÜNDÜZ

June 2021, 272 pages

The study aims to develop a gluten-free plant-based probiotic product with an addition of Isabella (*Vitis labrusca* L.) grape juice and *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Lactobacillus rhamnosus* LGG probiotic cultures into oat milk as an alternative to probiotic products containing milk. The production method of Isabella grape juice has been chosen considering the results of a comparison of antimicrobial and antioxidant characteristics of grape juices produced with different methods. an optimization process for producing oat milk enriched with Isabella grape juice was applied with *L. acidophilus* La-5 and *L. rhamnosus* LGG separately and during the storage process of the optimized product, the probiotic content was controlled, furthermore physical chemical and sensory characteristics were deduced.

The result of the study states that MIC of Isabella grape juice is 0.781-3.125% for *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus* and 50% for *L. acidophilus* La-5 and *L. rhamnosus* LGG probiotic cultures. Isabella grape juice has been found suitable for producing probiotic products as it does not have a high inhibition effect on probiotic cultures. The optimization process led to the realization that the optimum fermentation time for *L. rhamnosus* LGG was 24 hours, and the optimum concentration of the product was oat milk (6.74% oat) with an addition of 25% grape juice and 1.53% inulin. It was discovered that the usage of inulin as prebiotic has no positive effect on the survival of *L. acidophilus* La-5. Furthermore, it was observed that the addition of calcium carbonate to the fermentation resulted in high *L. acidophilus* La-5 viability. It has been found out

that the fermentation time was 8 hours for products containing *L. acidophilus* La-5 and the optimum composition was 24.99% grape juice and 197.35 mg Ca⁺²/100 ml oat milk addition into oat milk (5.24% oat). The results show that optimized Isabella grape juice enriched oat milk continues to be a probiotic carrier until 14 days for *L. acidophilus* and 21 days for *L. rhamnosus* during storage at 4°C.

Keywords: Probiotic, Functional Beverage, Oat Milk, Isabella Grape, Optimization



ÖNSÖZ

Probiyotik gıdalara olan ilgi, insan sağlığı üzerine olumlu etkilerinin halk arasında yaygınlaşması nedeniyle gün geçtikçe artmaktadır. Probiyotikler, yüksek besin içeriğine sahip süt ve süt bazlı gıdalarda daha yaygın olarak üretilmekte ve tüketilmektedir. Buna rağmen kişisel tercihleri veya laktoz intoleransı ve dislipidemi hastalığı gibi kolesterol sınırlayıcı diyetler uygulayan insanlar için süt tüketimi pek mümkün değildir. Bu nedenle süt ve süt ürünü içermeyen bu ürünlere alternatif olan probiyotik fonksiyonel bir ürüne ihtiyaç duyulmaktadır. Tahıllar ile hazırlanan içecekler ve meyve suları, yüksek oranda içerdikleri besin elementleri ile bu ihtiyacı karşılamakta ve potansiyel probiyotik taşıyıcısı oldukları düşünülmektedir. Yaygın olarak kullanılan bir tahıl çeşidi olan yulaf, hem içerdiği yüksek oranda protein ve demir kaynağı olarak tüketilmekte, hem de çölyak hastalığı gibi gluten sınırlayıcı diyet yapmak zorunda olan bireyler için iyi bir alternatiftir.

Bu çalışma kapsamında kişisel tercihler ve çeşitli hastalıklar sebebiyle gluten, süt ve süt ürünü tüketemeyen bireyler için yeni bir probiyotik ürün geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu sebeple elde edilen yulaf sütüne hem çeşitli besin elementleri içermesiyle probiyotik gelişimini desteklemek hem de duyuşal özelliklerini iyileştirmek amacıyla Isabella üzümü suyu ilave edilmiştir. Bu kapsamda yulaf sütüne eklenen Isabella üzüm sularının antimikrobiyal aktivitesi ve daha sonra optimize edilerek oluşturulan ürünlerin fermentasyon öncesi, sonrası ve depolama süresince farklı kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri araştırılarak ürünün içeriğı incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, bitkisel bazlı probiyotik gıdalar araştırmalarında yol göstermesi ve yardımcı olması amaçlanmıştır.

Hande Didar SÖZBİR

28/06/2021

İZMİR



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
İÇİNDEKİLER	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xxi
TABLolar DİZİNİ	xxvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxxix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1 Yulaf	5
2.1.1 Yulafın özellikleri	5
2.1.2 Yulafın sağlık üzerine etkileri	10
2.2 Isabella (<i>Vitis labrusca</i> L.) Üzümü	13
2.2.1 Isabella (<i>Vitis labrusca</i> L.) üzümünün özellikleri	13
2.2.2 Isabella üzümünün antimikrobiyal ve antifungal etkileri	17
2.2.3 Isabella üzümünün sağlık üzerine etkileri	17

İÇİNDEKİLER (devamı)

Sayfa

2.3 Probiyotik Mikroorganizmalar ve Probiyotik Bitkisel Gıdalar	19
2.3.1 Probiyotik mikroorganizmalar	19
2.3.2 Probiyotik meyve suları	24
2.3.3 Tahıl bazlı probiyotik gıdalar	30
2.3.4 Probiyotiklerin gelişimini etkileyen faktörler	34
2.4 Yanıt Yüzey Metodolojisi ile Optimizasyon	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM	49
3.1 Gereç	49
3.1.1 Probiyotik kültürler	49
3.1.2 Test kültürleri	49
3.1.3 Isabella (<i>Vitis labrusca</i> L.) üzümü	49
3.1.4 Yulaf ezmesi	50
3.1.5 İnülin	50
3.1.6 Kalsiyum karbonat (CaCO_3)	50
3.2 Yöntem	51
3.2.1 Farklı yöntemlerle üzüm suyu üretimleri	51

İÇİNDEKİLER (devamı)

Sayfa

3.2.2	Farklı yöntemlerle üretilmiş üzüm sularının seçilen probiyotik kültürler ve patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması.....	53
3.2.3	Farklı yöntemlerle üretilmiş üzüm sularının toplam fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi	57
3.2.4	Farklı yöntemlerle üretilmiş üzüm sularının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi.....	60
3.2.5	Yulaf sütünün hazırlanması	60
3.2.6	Liyofilize kültürlerdeki probiyotik suşların sayılarının belirlenmesi	61
3.2.7	Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş yulaf sütü içeceği üretim koşullarının belirlenmesi için yapılan ön denemeler	62
3.2.8	Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş yulaf sütü içeceği üretiminin yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu	70
3.2.9	Optimize edilmiş koşullarda Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin validasyonu	75
3.2.10	Optimize edilmiş koşullarda fermentasyon boyunca üreme eğrilerinin ve pH değerlerinin belirlenmesi	76
3.2.11	Optimize edilmiş koşullarda Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği üretimi	76

İÇİNDEKİLER (devamı)

Sayfa

3.2.12 Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin depolanması.....	77
3.3 Mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duyuşsal analiz yöntemleri.....	78
3.3.1 Probiyotik bakteri sayımı	78
3.3.2 pH ölçümü.....	79
3.3.3 Titrasyon asitliği.....	79
3.3.4 Toplam suda çözünür madde (°Brix) analizi	80
3.3.5 Toplam kuru madde analizi.....	80
3.3.6 Kül analizi	81
3.3.7 β -glukan testi	81
3.3.8 Diyet lif analizi.....	83
3.3.9 Protein analizi.....	83
3.3.10 Yağ analizi.....	84
3.3.11 Toplam karbonhidrat analizi	85
3.3.12 Su tutma kapasitesi analizi	85
3.3.13 Renk analizi.....	86

İÇİNDEKİLER (devamı)

Sayfa

3.3.14 Resveratrol analizi	86
3.3.15 Fenolik madde ve antioksidan aktivite analizi.....	86
3.3.16 Duyusal analizler	86
3.3.17 İstatistiksel analiz.....	87
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	88
4.1 Farklı Yöntemlerle Üretilmiş Üzüm Sularının Seçilen Probiyotik ve Patojen Bakteriler Üzerindeki Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi.....	88
4.2 Farklı Yöntemlerle Üretilmiş Üzüm Sularının Fenolik Madde Miktarları	92
4.3 Farklı Yöntemlerle Üretilmiş Üzüm Sularının Antioksidan Aktivite Analizi	96
4.4 Probiyotik Ürün Üretiminde Kullanılacak Üzüm Suyunun Seçilmesi.....	98
4.5 Liyofilize Kültürlerdeki Probiyotik Suşların Sayılarının Belirlenmesi.....	100
4.6 Probiyotik Ürünler İçin Fermantasyon Süresinin Belirlenmesi	100
4.6.2 <i>L. acidophilus</i> La-5 içeren probiyotik ürünler için ön denemeler ve fermantasyon süresinin belirlenmesi.....	114
4.6.3 Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği üretiminin optimizasyonu ve validasyonu	125
4.7 Optimize Edilmiş Koşullarda Fermantasyon Süresince Probiyotik Bakteri Sayılarının ve pH Değerlerinin Belirlenmesi.....	174

İÇİNDEKİLER (devamı)

Sayfa

4.7.1	Fermantasyon süresince <i>L. rhamnosus</i> LGG sayılarının ve pH değerlerinin belirlenmesi	174
4.7.2	Fermantasyon süresince <i>L. acidophilus</i> La-5 sayılarının ve pH değerlerinin belirlenmesi	178
4.8	Optimize Edilmiş Koşullarda Üretilen Isabella Üzüm Suyu ile Zenginleştirilmiş Probiyotik Yulaf Sütü İçeceklerinin Fermantasyon Öncesi ve Sonrasında Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	182
4.8.1	Toplam suda çözünür madde miktarları (°Brix)	182
4.8.2	Toplam kuru madde miktarları.....	185
4.8.3	Kül miktarları	188
4.8.4	β -Glukan testi	191
4.8.5	Diyet lif analizi.....	194
4.8.6	Protein analizi.....	196
4.8.7	Yağ analizi.....	199
4.8.8	Toplam karbonhidrat analizi	200
4.8.9	Su tutma kapasitesi analizi	202
4.8.10	Renk analizi.....	204
4.8.11	Fenolik madde ve antioksidan aktivite analizi	208

İÇİNDEKİLER (devamı)

Sayfa

4.8.12 Optimize edilmiş koşullarda üretilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin (OÜPY) besin içeriği	211
4.9 Probiyotik Yulaf Sütü İçeceğinin Depolanması	212
4.9.1 Depolama süresince <i>L. rhamnosus</i> LGG sayılarının belirlenmesi	212
4.9.2 Depolama süresince <i>L. acidophilus</i> La-5 sayılarının belirlenmesi	215
4.9.3 Depolama süresince pH ve titrasyon asitliği değerlerinin belirlenmesi...	217
4.9.4 Depolama süresince resveratrol miktarlarının belirlenmesi	224
4.9.5 Depolama süresince duyuusal özelliklerinin belirlenmesi.....	226
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	231
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	239
TEŞEKKÜR	271
ÖZGEÇMİŞ	272
EKLER	



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. <i>Avena sativa</i> L. bitkisi	6
2.2. (1-3)(1-4) β -glukan'ın kimyasal yapısı	9
2.3. Karadeniz Bölgesi'nde çardak sistemiyle Isabella üzümünün yetiştirilmesi ..	14
2.4. Isabella (<i>Vitis labrusca</i> L.) üzümünün salkım görüntüsü.....	14
2.5. İnülinin açık moleküler yapısı	39
2.6. Box-Behnken Metodu faktör dizayn noktaları	46
3.1. Isabella (<i>Vitis labrusca</i> L.) üzümü.....	50
3.2. Farklı yöntemlerle hazırlanmış üzüm sularının kaba filtre ile süzülmesi.....	56
3.3. <i>L. rhamnosus</i> LGG kültürü ile hazırlanan Isabella üzüm suyu içeren probiyotik içerikli yulaf sütü içeceğinin optimizasyon akım şeması.....	73
3.4. <i>L. acidophilus</i> La-5 ile hazırlanan Isabella üzüm suyu içeren probiyotik içerikli yulaf sütü içeceğinin optimizasyon akım şeması	75
3.5. Depolama süresince yapılan analizlerin deneme planı	78
3.6. Potansiyometrik metot ile titrasyon asitliği ölçümü	80
3.7. Yağ analizinde kullanılan soksalet düzeneği	85
4.1. Gallik asit konsantrasyon eğrisi.....	93

ŞEKİLLER DİZİNİ (devamı)

Şekil

Sayfa

- 4.2. %2 yulaf içeriğine sahip yulaf sütü içeren optimizasyon denemelerinde 48 saat boyunca *L. rhamnosus* sayısındaki değişim.....106
- 4.3. %6 yulaf içeriğine sahip yulaf sütü içeren optimizasyon denemelerinde 48 saat boyunca elde edilen *L. rhamnosus* sayısı değişimi.....106
- 4.4. %10 yulaf içeriğine sahip yulaf sütü içeren optimizasyon denemelerinde 48 saat boyunca elde edilen *L. rhamnosus* sayısındaki değişim107
- 4.5. *L. rhamnosus* LGG için fermentasyon süresi belirlemek için hazırlanan deneme desenine ait probiyotik bakteri sayımlarının inülin değeri sabit tutulduğunda 8. saate göre RSM grafiği.....108
- 4.6. *L. rhamnosus* LGG için fermentasyon süresi belirlemek için hazırlanan deneme desenine ait probiyotik bakteri sayımlarının inülin değeri sabit tutulduğunda 24. saate göre RSM grafiği109
- 4.7. *L. rhamnosus* LGG için fermentasyon süresi belirlemek için hazırlanan deneme desenine ait probiyotik bakteri sayımlarının inülin değeri sabit tutulduğunda 48. saate göre RSM grafiği110
- 4.8. *L. rhamnosus* LGG için fermentasyon süresi belirlemek için hazırlanan deneme desenine ait pH değerinin sabit inülin değerinde 8. saate bağlı RSM grafiği.....111
- 4.9. *L. rhamnosus* LGG için fermentasyon süresi belirlemek için hazırlanan deneme desenine ait pH değerinin sabit inülin değerinde 24. saate bağlı RSM grafiği.....112

ŞEKİLLER DİZİNİ (devamı)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.10. <i>L. rhamnosus</i> LGG için fermantasyon süresi belirlemek için hazırlanan deneme desenine ait pH değerinin sabit inülin değerinde 48. saate bağlı RSM grafiği	113
4.11. <i>L. rhamnosus</i> LGG için fermantasyon süresi belirlemek için seçilen koşullara bağlı olarak oluşturulan “Desirability” RSM grafiği	114
4.12. Fermantasyon süresinin sonunda <i>L. rhamnosus</i> sayılarının RSM grafiği ..	131
4.13. <i>L. rhamnosus</i> LGG için 24. saat pH değerinin RSM grafiği	133
4.14. <i>L. rhamnosus</i> LGG için fermantasyon sonu tat yanıtı için RSM grafiği....	135
4.15. <i>L. rhamnosus</i> LGG için fermantasyon sonu yabancı tat yanıtı için RSM grafiği.....	137
4.16. <i>L. rhamnosus</i> LGG için fermantasyon sonu asitlik yanıtı için RSM grafiği	139
4.17. <i>L. rhamnosus</i> LGG için fermantasyon sonu aroma yanıtı için RSM grafiği	141
4.18. <i>L. rhamnosus</i> LGG için fermantasyon sonu kıvam yanıtı için RSM grafiği	143
4.19. <i>L. rhamnosus</i> LGG için fermantasyon sonu genel kabul edilebilirlik yanıtı için RSM grafiği	145
4.20. <i>L. rhamnosus</i> LGG için fermantasyon sonu su tutma yanıtı için RSM grafiği	147

ŞEKİLLER DİZİNİ (devamı)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.21. <i>L. rhamnosus</i> LGG ile üretilen yulaf sütü kontrol örnekleri.....	149
4.22. <i>L. rhamnosus</i> LGG ile üretilen üzüm suyu kontrol örnekleri	149
4.23. <i>L. rhamnosus</i> LGG ile üretilen optimum koşullarda hazırlanan örnekler .	150
4.24. <i>L. acidophilus</i> La-5 için 8. saat probiyotik bakteri sayımlarının RSM grafiği	156
4.25. <i>L. acidophilus</i> La-5 için 8. saat pH değerinin RSM grafiği.....	158
4.26. <i>L. acidophilus</i> La-5 için fermentasyon sonu tat yanıtı için RSM grafiği...	160
4.27. <i>L. acidophilus</i> La-5 için fermentasyon sonu yabancı tat yanıtı için RSM grafiği	162
4.28. <i>L. acidophilus</i> La-5 için fermentasyon sonu asitlik yanıtı için RSM grafiği	164
4.29. <i>L. acidophilus</i> La-5 için fermentasyon sonu aroma yanıtı için RSM grafiği	166
4.30. <i>L. acidophilus</i> La-5 için fermentasyon sonu kıvam yanıtı için RSM grafiği	168
4.31. <i>L. acidophilus</i> La-5 için fermentasyon sonu genel kabul edilebilirlik yanıtı için RSM grafiği.....	170
4.32. <i>L. acidophilus</i> La-5 için fermentasyon sonu su tutma yanıtı için RSM grafiği	172

ŞEKİLLER DİZİNİ (devamı)

Şekil

Sayfa

- 4.33. *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan örnekler 174
- 4.34. Optimize edilmiş koşullarda üretilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY),
üzüm suyu ve yulaf sütü örneklerinde fermantasyon süresince *L.*
rhamnosus LGG sayıları 175
- 4.35. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş
probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü
örneklerinde fermantasyon süresince pH değerleri 176
- 4.36. Optimize edilmiş koşullarda üretilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY),
CaCO₃ içeren/içermeyen üzüm suyu ve yulaf sütü örneklerinde
fermantasyon süresince *L. acidophilus* La-5 sayıları 179
- 4.37. *L. acidophilus* La-5 içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş
probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), CaCO₃ içeren/içermeyen üzüm
suyu ve yulaf sütü örneklerinde fermantasyon süresince pH değerleri ... 180



TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Yıllara göre Türkiye’de yulaf üretimi.....	7
2.2. Yulafın besin içeriği (%12 nem içeren).....	8
2.3. Yulaf kepeğinin bileşimi.....	8
2.4. Kavuzlu yulafın besin içeriği.....	9
2.5. Isabella üzümünün kimyasal özellikleri.	15
2.6. Isabella üzüm suyunun mineral değerleri	15
2.7. Isabella üzümünün fenolik içeriği	16
2.8. İnsan vücudunun farklı bölümlerinde bulunan mikroorganizmalar.	19
2.9. Yaygın olarak kullanılan probiyotikler.....	21
2.10. Probiyotik bakterilerin sağlık etkileri	23
2.11. Probiyotik bakteriler ve ürettiği antimikrobiyal maddeler	24
2.12. Meyve sularında kullanılan probiyotik suşlar ve meyve sularının probiyotiklere etkileri	27
2.13. Probiyotik bitkisel ürünler konusunda yapılan çalışmalar.....	29
2.14. Tahıllar ile yapılan fermente probiyotik ürünler ve içerdiği canlı hücre sayıları	30
2.15. Probiyotik suşlarının canlılığına etki eden faktörler.....	35

TABLOLAR DİZİNİ (devamı)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Gallik asit eğrisi için stok çözeltiden alınan sıvı miktarı	58
3.2. Ön denemeler süresince oluşturulan örnekler ve fermantasyon süreleri	62
3.3. Her iki mikroorganizma için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımlı değişkenler	70
3.4. <i>L. rhamnosus</i> LGG için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımsız değişkenler ve faktörlerin seviyeleri	71
3.5. <i>L. rhamnosus</i> LGG için Desing Expert programından elde edilen deneme deseni.	71
3.6. <i>L. acidophilus</i> La-5 için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımsız değişkenler ve faktörlerin seviyeleri	74
3.7. <i>L. acidophilus</i> La-5 için Desing Expert programından elde edilen deneme deseni.	74
4.1. Dört farklı yöntemle hazırlanmış üzüm suyu örnekleri için MİK ve MBK değerleri	88
4.2. Gallik asit eğrisi için oluşturulan farklı konsantrasyonların absorbans değerleri	93
4.3. Üzüm suyu örneklerinin ölçülen absorbans değerleri ve gallik asit cinsinden fenolik madde miktarları	94
4.4. Üzüm suyu örneklerinin DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite yüzdeleri	97

TABLOLAR DİZİNİ (devamı)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.5. Üzüm suyu üretim yönteminin belirlenmesi için yapılan MİK testleri, fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite analiz sonuçları	99
4.6. <i>L. rhamnosus</i> LGG şusu ile hazırlanan örneklerin 60 günlük depolama süresince elde edilen probiyotik bakteri sayıları	101
4.7. Box-Behnken Metodu ile oluşturulan deneme deseni ile yapılan çalışmada 8 saatte bir alınan örneklerin pH değerleri ve <i>L. rhamnosus</i> LGG sayıları	102
4.8. Farklı kültür hazırlama yöntemleri ile elde edilen ürünlerin pH değerleri ve probiyotik bakteri sayıları.....	115
4.9. İnokulum miktarı artırılarak ve farklı kültürler kullanılarak yulaf sütü ve soya sütünün karşılaştırılması kapsamında hazırlanan örneklerin pH ve probiyotik sayım sonuçları	116
4.10. Laboratuvar ortamında üretilen yulaf sütü ile yerel marketlerde satılan yulaf sütlerinde pH değerleri ve <i>L. acidophilus</i> La-5 sayılarının karşılaştırılması.....	117
4.11. Yulaf sütlerine süktroz ve α -amilaz enzimi eklenerek elde edilen ürünlerin pH değerleri ve probiyotik bakteri sayımı sonuçları	118
4.12. Düşük pH değerlerinde yulaf sütünde ve MRS sıvı besiyerinde fermentasyon süresi boyunca <i>L. acidophilus</i> La-5 sayıları	119
4.13. Farklı konsantrasyonlarda ve içerikte hazırlanan yulaf sütleri ile yapılan ürünlerin fermentasyon süresi boyunca pH değerleri ve probiyotik bakteri sayıları	122

TABLOLAR DİZİNİ (devamı)

Tablo

Sayfa

4.14. Kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu ilave edilmiş yulaf sütlerinin 30 saatlik fermantasyon süresince pH değerleri.....	123
4.15. Kalsiyum karbonat içeren yulaf sütüne farklı konsantrasyonlarda üzüm suyu ilave edilmiş yulaf sütü örneklerinin 8 ve 24 saatlik fermantasyon süresince pH değerleri ve probiyotik sayıları	123
4.16. Farklı oranlarda kalsiyum karbonat içeren yulaf sütlerinde fermantasyon sonrası pH değerleri ve <i>L. acidophilus</i> La-5 sayıları.....	124
4.17. <i>L. rhamnosus</i> LGG için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımlı değişkenler	126
4.18. <i>L. rhamnosus</i> LGG için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımsız değişkenler ve faktörlerin seviyeleri.....	126
4.19. <i>L. rhamnosus</i> LGG için oluşturulan Design Expert deneme desenine bağlı olarak oluşturulan örneklerin 24 saatlik fermantasyon süresi boyunca pH değerleri ve probiyotik sayıları	127
4.20. <i>L. rhamnosus</i> LGG için oluşturulan Design Expert koşul tablosuna bağlı olarak hazırlanan örneklerin fermantasyon sonunda 17 yarı eğitimli panelist ile yapılan duyuşal değerlendirme sonuçları	128
4.21. <i>L. rhamnosus</i> LGG için oluşturulan Design Expert koşul tablosuna bağlı olarak hazırlanan örneklerin 24 saatlik fermantasyon sonunda elde edilen su tutma kapasitesi sonuçları	129
4.22. Fermantasyon sonrasındaki <i>L. rhamnosus</i> LGG sayıları için oluşturulan modelin ANOVA değerleri sonuçları	130

TABLOLAR DİZİNİ (devamı)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.23. pH değerleri için oluşturulan modelin ANOVA değerleri sonuçları.....	132
4.24. Modelin Tat değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları	134
4.25. Modelin Yabancı Tat değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları	136
4.26. Modelin Asitlik değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları	138
4.27. Modelin Aroma değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları	140
4.28. Modelin Kıvam değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları	142
4.29. Modelin Genel Kabul Edilebilirlik değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları	144
4.30. Modelin Genel Kabul Edilebilirlik değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları	146
4.31. <i>L. rhamnosus</i> LGG için elde edilen optimum koşulları ile oluşturulan örneklerin deney sonucunda vereceği tahmini sonuçlar.....	148
4.32. <i>L. acidophilus</i> La-5 için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımlı değişkenler.....	151

TABLOLAR DİZİNİ (devamı)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.33. <i>L. acidophilus</i> La-5 için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımsız değişkenler ve faktörlerin seviyeleri.....	151
4.34. <i>L. acidophilus</i> La-5 için CaCO ₃ eklenerek oluşturulan Design Expert koşul tablosuna bağlı olarak oluşturulan örneklerin fermantasyon başında ve sonunda elde edilen pH ve <i>L. acidophilus</i> La-5 Sayıları	152
4.35. <i>L. acidophilus</i> La-5 için oluşturulan Design Expert koşul tablosuna bağlı olarak hazırlanan örneklerin fermantasyon sonunda duyuşal değerlendirme sonuçları.....	153
4.36. <i>L. acidophilus</i> La-5 için oluşturulan Design Expert koşul tablosuna bağlı olarak hazırlanan örneklerin fermantasyon sonunda elde edilen su tutma kapasiteleri	154
4.37. Fermantasyon sonrasındaki <i>L. acidophilus</i> La-5 sayıları için oluşturulan modelin ANOVA değerleri sonuçları	155
4.38. Modelin pH değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları	157
4.39. Modelin Tat değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları.....	159
4.40. Modelin Yabancı Tat değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları	161
4.41. Modelin Asitlik değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları	163
4.42. Modelin Aroma değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları	165

TABLOLAR DİZİNİ (devamı)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.43. Modelin Kıvam değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları	167
4.44. Modelin Genel Kabul Edilebilirlik değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları	169
4.45. Modelin Su Tutma değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları	171
4.46. <i>L. acidophilus</i> La-5 için elde edilen optimum koşulları ile oluşturulan örneklerin deney sonucunda vereceği tahmini sonuçlar.....	173
4.47. <i>L. rhamnosus</i> LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%6,74, w/v) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası ve depolama süresi boyunca °Brix değerleri.....	182
4.48. <i>L. acidophilus</i> La-5 içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu, kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu ve kalsiyum karbonat içeren yulaf sütü (%5,24, w/v) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası ve depolama süresi boyunca °Brix değerleri	184
4.49. <i>L. rhamnosus</i> LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası toplam kuru madde içeriği.....	186
4.50. <i>L. acidophilus</i> La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%5,24 (w/v)) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası toplam kuru madde içeriği sonuçları	187

TABLOLAR DİZİNİ (devamı)

TabloSayfa

- 4.51. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası kül analizi sonuçları 189
- 4.52. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%5,24 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası kül içerikleri sonuçları190
- 4.53. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%6,74, w/v) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası β -glukan miktarları....192
- 4.54. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%5,24 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi ve sonrası β -glukan miktarları193
- 4.55. *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinin toplam diyet lifi analizi sonuçları.....195
- 4.56. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası protein analizinin sonuçları197
- 4.57. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%5,24 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası protein analizi sonuçları197

TABLOLAR DİZİNİ (devamı)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.58. <i>L. rhamnosus</i> LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası karbonhidrat içeriği sonuçları	200
4.59. <i>L. acidophilus</i> La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%5,24 (w/v)) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası karbonhidrat hesaplaması sonuçları	201
4.60. <i>L. rhamnosus</i> LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası su tutma kapasitesi sonuçları	203
4.61. <i>L. acidophilus</i> La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası su tutma kapasitesi sonuçları.....	203
4.62. <i>L. rhamnosus</i> LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası renk analizi sonuçları	205
4.63. <i>L. acidophilus</i> La-5 suşu ile hazırlanan yulaf sütü örneklerinin fermantasyon başında ve sonunda elde edilen renk değişimi sonuçları	206
4.64. <i>L. rhamnosus</i> LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve üzüm suyu örneklerinde fermantasyon öncesi ve sonrası toplam fenolik madde miktarı	208

TABLOLAR DİZİNİ (devamı)

TabloSayfa

- 4.65. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve üzüm suyu örneklerinde fermantasyon öncesi ve sonrası toplam fenolik madde miktarı.....208
- 4.66. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve üzüm suyu örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası antioksidan aktivite sonuçları209
- 4.67. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve üzüm suyu örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası antioksidan aktivite sonuçları210
- 4.68. *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 eklenerek hazırlanan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinin besin içeriği212
- 4.69., 28 günlük depolama süresi boyunca *L. rhamnosus* LGG sayıları213
- 4.70., 28 günlük depolama süresi boyunca *L. acidophilus* La-5 sayıları215
- 4.71. Depolama süresi boyunca *L. rhamnosus* LGG ile üretilen örneklerin pH değerleri217
- 4.72. Depolama süresi boyunca *L. rhamnosus* LGG ile üretilen örneklerde titrasyon asitliği değişimleri.....219
- 4.73. Depolama süresi boyunca *L. acidophilus* La-5 içeren probiyotik ürünlerin pH değerleri221

TABLolar DİZİNİ (devamı)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.74. Depolama süresi boyunca <i>L. acidophilus</i> La-5 probiyotik ürünlerin titrasyon asitliği analizi sonuçları.....	222
4.75. Farklı yöntemlerle hazırlanmış üzüm suyu örneklerinin resveratrol içeriği	224
4.76. Farklı probiyotik kültürler ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin ve üzüm sularının resveratrol miktarları	225
4.77. <i>L. rhamnosus</i> LGG ile hazırlanan örneklerin 28 günlük depolama süresince duyusal değerlendirme sonuçları.....	227
4.78. <i>L. acidophilus</i> La-5 ile hazırlanan örneklerin 28 günlük depolama süresince duyusal değerlendirme sonuçları.....	228



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
dk	Dakika
FAO	Food and Agriculture Organization/Gıda ve Tarım Örgütü
g	Gram
GAE	Gallik asit eşdeğeri
KOB/ml	Koloni oluşturan birim/mililitre
KÜS	Kaynatılmış üzüm suyu
KÜSP	Kaynatılmış pastörize üzüm suyu
log	Logaritmik birim
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
ml	Mililitre
mM	Milimolar
MÖ	Milattan önce
NaOH	Sodyum hidroksit
nm	Nanometre
ppm	Milyonda bir birim
rpm	Dakikada devir sayısı

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devamı)

TÜS	Taze üzüm suyu
TÜSP	Taze pastörize üzüm suyu
WHO	World Health Organization/Dünya Sağlık Örgütü



1. GİRİŞ

Fermantasyon işlemi gıdaların korunmasında kullanılan en eski yöntemlerden biridir (Marsh et al., 2014). Fermente gıdalar sağlıklı beslenme açısından önemli olup, uygarlıkların başlangıcından bu yana tüketilmektedir. Fermente ürünlerin ne zaman keşfedildiği tam olarak bilinmemekle birlikte, çiğ sütlerin kesilmesi ve topaklanması veya hazırlanan meyve sularının ekşime ve bozulma durumları gözlemlenmiş ve zamanla fermantasyon sürecinin kontrolü sağlanmıştır (Hutkins, 2008). Fermente ürünler, kontrollü koşullarda mikroorganizmaların gelişmeleri sağlanarak majör ve minör gıda bileşenlerinin enzimatik dönüşümleri ile elde edilen gıdalardır (Marco et al., 2017). Fermantasyon süreci gıdaların depolama ömrünün uzatılarak ileriki zamanlarda tüketilebilmesine ve duyuşsal özelliklerinin geliştirilerek istenen ürünlere dönüştürülmesine imkân tanımaktadır (Campbell-Platt, 1994; Ray and Bhunia, 2007). Fermantasyon işlemi ile ürünlerin besin değeri ve mineral biyokullanılabilirliği arttırılmakta, sindirilmesi zor olan uzun karbonhidrat zincirlerinin ve proteinlerin sindirimi kolaylaştırılmakta olup sağlık üzerine olumlu etkiler sağlanmaktadır (Steinkraus, 1997; Altay et al., 2013).

Son yıllarda değışen tüketici talepleri ile birlikte, fermente ürünlerin sağlık üzerine olumlu etkileri sebebiyle, probiyotik ve prebiyotik içrikli fonksiyonel fermente gıdalar hem tüketicilerin hem de araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Probiyotik ve prebiyotik içrikli gıdalar iyi bir fonksiyonel gıda olma özelliği taşımakta olup, tüketim sonucu vücuda alınmasıyla hastalıkları önlemesi gibi yararlarının yanında, konak canlının sindirim sistemini düzenlemeye de yardımcı olmaktadır (Stringheta et al., 2007; Cencic and Chingwaru, 2010; Granato et al., 2010; Martins et al., 2013; Randazzo et al., 2016; Silva and Ferrari, 2016). Dünya Sağlık Örgütü'nün yapmış olduğı tanıma göre probiyotikler, yeterli miktarda vücuda alındığında tüketici üzerinde çeşitli sağlık etkileri gösteren canlı mikroorganizmalardır (FAO/WHO, 2002). Probiyotik içeren bir gıdanın sağlık yararları sağlayabilmesi için, probiyotiklerin taşıyıcı gıda içerisinde minimum 10^6 KOB/g veya KOB/ml düzeylerinde canlı kalması ve gastrointestinal sistemin koşullarına dayanıklı olması gerekmektedir (Nagpal et al., 2012). Ancak,

probiyotiklerin bireyde sağlık üzerinde olumlu etki gösterebilmesi için vücuda alınması gereken miktarı $10^8 - 10^9$ KOB/gün veya KOB/100 g aralığında olması gerektiği ifade edilmektedir (Ray and Bhunia, 2007; Doherty et al., 2010; Sidira et al., 2017).

Süt ve süt ürünleri probiyotik mikroorganizmaların gelişebilmesi ve canlılığını sürdürebilmesi açısından zengin bir besin içeriğine sahiptir. Ancak, süt içeren probiyotik ürünler laktoz intoleransı, galaktozemi gibi hastalıkları olan veya vegan görüŖe sahip bireyler tarafından tüketilememektedir. Bununla beraber çölyak hastaları gibi gluten intoleransı olan veya dislipidemi hastaları gibi kolesterol sınırlandırıcı diyetler yapmak zorunda olan hastalar ve aynı zamanda da çeşitli sebeplerle bitkisel gıda tüketmeyi tercih eden bireyler için probiyotik meyve suyu üretimi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (Ranadheera et al., 2010; Peres et al., 2012; Tonguç and Karagözlü, 2013; Silva and Ferrari, 2016). Meyve sularının, sindirim sisteminde süt ve süt ürünlerine kıyasla daha rahat sindirildiği bilinmektedir. Bu sebeple yapılan araştırmalarda meyve suyu bazlı probiyotik ürünler tercih edilmeye başlanmıştır (Ding and Shah, 2008). Ayrıca çölyak hastaları gibi glutene karşı reaksiyon gösteren bireyler göz önünde bulundurularak yulaf ve yulaf ürünlerine probiyotik mikroorganizmalar ilave edilerek çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Yulafın yüksek oranlarda vitamin, mineral ve prebiyotik özellikli sindirilemeyen oligosakkaritler içermesi sebebiyle potansiyel probiyotik taşıyıcısı olabileceği görülmektedir. Karbonhidrat, protein, aminoasit, yağ asitleri gibi besin elementlerine sahip olması nedeniyle, yulafın laktik asit bakterileri için uygun bir substrat olduğu düşünölmektedir. Yulafın potansiyel bir probiyotik taşıyıcısı olduğu düşünölmesine rağmen bu konu üzerine yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır (Gupta et al., 2010; Bernat et al., 2015; Enujiugha and Badejo, 2017).

Bu proje kapsamında kullanılmış olan yulaf sütü, yukarıda da belirtildiği gibi gluten intoleransı bulunan çölyak hastası bireyler için de uygun özellikte olup, yulaf sütünün içerisinde herhangi bir süt bazlı ürün bulunmaması, laktoz intoleransı, galaktozemi ve vegan düşünceye sahip bireyler için de ürünü tüketilebilir kılmaktadır. Bununla birlikte, yapılan araştırmalarda su bazlı yulaf ürünlerinin lezzetinin yeterli seviyede olmadığı düşünölmektedir (Whalen, 2004).

Yapılan araştırmalar sonucunda, çalışma kapsamında kullanılacak olan karakteristik “yavan” tada sahip yulafın süt içermeyen ieeğinin duysal özelliklerinin üzüm suyu ile iyileştirilmesi amaçlanmıştır. Proje kapsamında üretilcek yulaf sütü ieeğini besin içeriğı ve tat bakımından zenginleştirmek amacıyla kullanılacak olan üzüm suyu; probiyotiklere şeker, antioksidan ve vitamin bakımından destek sağlayabileceğı göz önünde bulundurularak seçilmiştir. Yapılan araştırmalara göre, Isabella türü üzümlerin fenolik madde, vitamin ve mineral içeriğinin yüksek olduğu, şeker ve asit oranının ise düşük olduğu rapor edilmiştir (Köse, 2014; Toaldo et al., 2015). Üzümün polifenol, antioksidan, antosiyanin ve resveratrol içeriğı üzümün yetiştiğı bölgeye, toplandığı mevsime ve toplanan bölgenin iklim koşullarına göre değişmekle beraber, *Vitis labrusca* L. (Isabella) türünün bu değerleri yüksek oranda ierdiğı saptanmıştır (Cazarin et al., 2013; Toaldo et al., 2013; Lima et al., 2015; Padilha et al., 2017). Aynı zamanda bu üzüm türünün tüketimiyle, insan sağlığı üzerinde hücre ölümüne yol açan lipid peroksidasyonun engellenmesi, antialerjenik, antikanserojen, antibakteriyal ve yüksek trans-resveratrol seviyesi ile antioksidan gibi birçok etkisinin olduğu da araştırmalar sonucu ortaya konmuştur (Santos et al., 2011; Burin et al., 2014; Toaldo et al., 2015; Yang and Stockwell, 2016; Gaschler and Stockwell, 2017; Demirkol and Tarakci, 2018). *Vitis labrusca* L. türünün yüksek polifenol değerlere sahip olmasının yanında, çok düşük konsantrasyonlarda bile antimikrobiyal ve antifungal etkisi olduğu saptanmıştır (Kulakiotu et al., 2004; Vodnar et al., 2017; Gündüz et al., 2019). Kullanılacak zmn kimyasal özelliklerinin yanında, duysal ve mikrobiyolojik özellikleri de göz önünde bulundurularak Isabella cinsi olarak bilinen *Vitis labrusca* L. türü olması tercih edilmiştir (Martins et al., 2013; Silva and Ferrari, 2016; Kurt et al., 2017).

Bu projede, süt bazlı probiyotik ürünlere alternatif olarak üretilen yulaf sütüne Isabella zm suyu ve probiyotik özellikteki *Lactobacillus rhamnosus* LGG veya *Lactobacillus acidophilus* La-5 suşların ilave edilmesi ile gluten ve laktoz içermeyen yeni bir bitkisel probiyotik ürün geliştirilmesi amaçlanmıştır. Üretilen bu probiyotik ürünün 4°C’de 28 günlük depolama süresi boyunca probiyotik bakteri sayılarının 10⁶ KOB/g seviyesinin üzerinde tutularak probiyotik

özelliğini koruması ve bu süre zarfında ürünün içerisinde herhangi bir bozulma olmadan raf ömrünü tamamlaması hedeflenmiştir. Bu kapsamda, Isabella üzüm (*Vitis labrusca* L.) suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği üretiminin optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve optimize edilmiş koşullarda üretilen ürünlerin 28 gün boyunca 4°C’de depolaması süresince probiyotik bakterilerin canlı kalma durumları, fizikokimyasal ve duyusal özellikleri fermantasyon ve depolama süreci boyunca incelenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Yulaf

2.1.1 Yulafın özellikleri

Yulaf (*Avena sativa* L.), soğuk iklimlerde yetişen Poaceae ailesine ait bir tahıl cinsidir ve Asya kökenli olduğuna inanılmaktadır (Şekil 2.1) (Butt et al., 2008). Bazı kaynaklara göre ise Akdeniz ve Ortadoğu orijinli olduğu söylenmektedir (Arendt and Zannini, 2013). Yulafın insanoğlu tarafından ilk kullanılan tahıllardan biri olduğu düşünülmektedir ve MÖ 10500 yıllarında Yunanistan'da bulunan bir mağarada yulaf tanelerine rastlanmıştır (Arendt and Zannini, 2013). Buğday ve arpadan çok uzun süre sonra kültüre edilen yulafın, günümüzde en yaygın olarak kullanılan türü *Avena sativa* L.'dir ve yıllık bir bitkidir (Zwer, 2004; Welch, 2012). Hayvanların ve insanların beslenmesinde yaygın olarak kullanılan yulaf, aynı zamanda, günümüzde çok yaygın olmasa da kozmetik, endüstriyel, eczacılık ve uyuşturucu bağımlılığını bıraktırma gibi alanlarda da kullanılmaktadır (Zwer, 2004; Butt et al., 2008; Singh and Belkheir, 2013).



Şekil 2.1. *Avena sativa* L. bitkisi

Yapılan araştırmalara göre, yulaf 2000'lerin ilk 10 yılında dünya genelinde araştırılan 8 tahıl türü içerisinde üretimde 6. sırada yer almış olup, toplam tahıl üretiminin %1,4'ünü oluşturmaktadır (Arendt and Zannini, 2013). 2020 yılında yayınlanan yulaf üretimi raporlarına göre Dünya bazında üretimler 2017/2018 döneminde 23,70 milyon ton iken bu sayılar 2018/2019 yılında 21,92 milyon tona düşmüştür. 2020 yılında ise yulaf üretimi 22,61 milyon tona ulaşmıştır. Türkiye ise 2020 yılında Dünya üzerinde toplam yulaf üretiminin sadece %1,017 sini oluşturmakta olup, 2020 yılında Türkiye'de yulaf üretimi 0,23 milyon ton olarak rapor edilmiştir (USDA, 2020). Türkiye İstatistik Kurumu'nun (TÜİK) paylaştığı 1988 ve 2020 yılları arasında yulaf üretim miktarları Tablo 2.1'de gösterilmiştir. Türkiye sınırları içerisinde yulaf üretimi 2008 yılından sonra artış göstermeye başlamış ve 2020 yılında yulaf üretimi Türkiye genelinde %0,8458 olarak hesaplanmıştır (TÜİK, 2021).

Tablo 2.1. Yıllara göre Türkiye’de yulaf üretimi (TÜİK, 2021)

Yıllar	Ekilen Alan (dekar)	Üretim (kg)	Verim (kg/dekar)	Yulaf Üretimi (% kg _{yulaf} /kg _{toplam tahıl})
1988	1490000	276000	185	0.8934
1998	1585000	310000	196	0.9341
2008	910355	196099	215	0.6696
2009	927780	218286	235	0.6501
2010	883900	203870	231	0.6221
2011	858626	218040	254	0.6194
2012	893267	210000	235	0.6292
2013	925490	235000	254	0.6269
2014	938621	210000	224	0.6419
2015	1034570	250000	242	0.6471
2016	994379	225000	226	0.6377
2017	1128796	250000	221	0.6919
2018	1058254	260000	246	0.7556
2019	1098227	265000	241	0.7703
2020	1132633	314528	278	0.8458

Yulaf, diğer tahıl türleri içerisinde yüksek yağ ve protein içeriği gibi besleyici özelliğiyle benzersiz özelliktedir. Yapılan çalışmalarla yulafın farklı bileşenlerinin beslenme açısından önemi kanıtlanmıştır (Viscidi et al., 2004; Butt et al., 2008). Yulaf içerisinde yüksek miktarda protein, mineraller, lipidler, β -glukan, diyet liflerinin önemli bir çoğunluğunu oluşturan polisakkaritler ve flavonoidler bulunmaktadır. Yulaf, beslenme için önemli olan proteinlerin, karbonhidratların, vitaminlerin (B grubu) ve minerallerin kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Singh and Belkheir, 2013; Liptáková et al., 2017). Yulaf, günümüzde yulaf ezmesi ve yulaf unu olarak kek, bisküvi, lapa biçimlerinde pişirilerek, ya da müsli ve granola şeklinde pişirilmeden tüketilmektedir. İçerisinde bulunan zengin besin öğeleri sebebiyle birçok alanda kullanılmaktadır.

Yulafın besin içeriği Tablo 2.2’de, yulaf kepeğinin besin içeriği Tablo 2.3’te ve kavuzlu yulafın besin içeriği Tablo 2.4’te gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Yulafın besin içeriği (%12 nem içeren) (Singh and Belkheir, 2013; Kaur et al., 2014)

Besin maddesi	Miktar (100 g için)
Protein	17,0 g
Yağ	6,0 g
Kül	2,6 g
Ham lif	11,0 g
Karbonhidrat	66,0 g
Enerji	390 kcal
Kalsiyum	54-79,6 mg
Demir	4,7-5,8 mg
Tiamin	0,22 mg
Riboflavin	0,12 mg
Niasin	3,2 mg
Potasyum	355 mg
Magnezyum	129 mg
Fosfor	342 mg
Manganez	3,7 mg
Çinko	4,5 mg
Bakır	0,47 mg

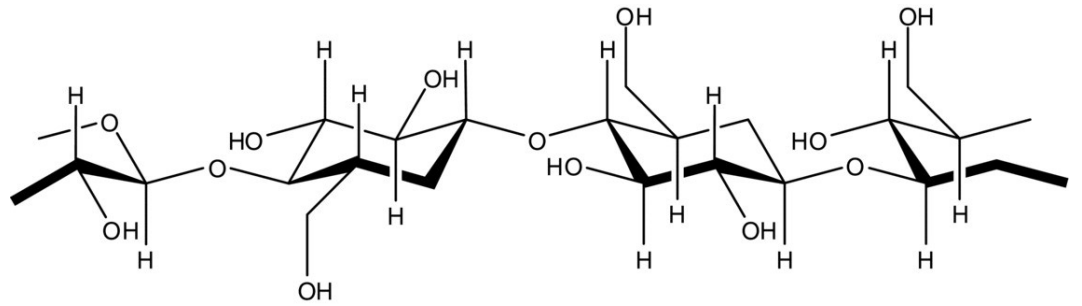
Tablo 2.3. Yulaf kepeğinin bileşimi (Sangwan and Singh, 2018)

Besin maddesi	Miktar (%)
Protein	13-24
Nişasta ve şeker	10-50
Yağ	5-14
Toplam diyet lifi	15-32
β -glukan	6-20

Tablo 2.4. Kavuzlu yulafın besin içeriği (Yaver ve Ertaş, 2013)

Besin maddesi	Miktarı
Protein	% 9-16
Yağ	% 5-9
Kül	% 1,5-4,0
Selüloz	% 12,4
Karbonhidrat	% 53-68
Su	% 9,8
Azotsuz ekstrat	% 57,1
Tiamin	7,0 mg/kg
Riboflavin	1,8 mg/kg
Niasin	17,8 mg/kg
Pantotenik asit	14,5 mg/kg

β -glukan, tahıllar içerisinde yulaf ve arpada bulunmaktadır. Yulafın suda çözünebilir diyet liflerinden en önemlisi olan β -glukan, β -glukan(1-3) ve β -glukan(1,4)'ün karışık doğrusal zincirinden oluşmaktadır (Şekil 2.2). Yulaf içerisinde alevron ve endosperm duvarında bulunur ve tanecik içerisindeki yoğunluğu %1,8-7 arasında değişmektedir. Bu yoğunluk içerisinde β -glukan(1-3) ve β -glukan(1,4)'ün bulunma oranı ise sırasıyla %30 ve %70'tir (Martinez-Villaluenga and Peñas, 2017).

Şekil 2.2. (1-3)(1-4) β -glukan'ın kimyasal yapısı (Singh and Belkheir, 2013)

2.1.2 Yulafın sağlık üzerine etkileri

Tahıllar, içerdiği protein, karbonhidrat ve yağ bileşenlerinin yanı sıra vitamin, mineral ve diğer mikrobileşenleri de içermekte ve insanlar için mükemmel bir besin kaynağı sayılmaktadır (Borneo and León, 2012). Aynı zamanda insan sağlığına olumlu etkileri ve çeşitli hastalık risklerini azaltıcı özelliklerinden dolayı fonksiyonel gıdalar olarak tanınmaktadır (Sterna et al., 2016).

Tahıl çeşitlerinden biri olan yulaf, günümüzde kozmetik sektöründe, yapıştırıcı olarak, hayvan yemi ve insanların beslenmesi gibi birçok alanda kullanılmasının yanında; uzun zamanlar boyunca uyarıcı, tümör önleyici, idrar söktürücü, spazm önleyici olarak kullanılmıştır. Ayrıca yulaf antioksidan, iltihaplanma önleyici, yara iyileştirici, bağışıklık sistemini düzenleyici, diyabet önleyici ve kolesterol önleyici olarak farmakolojik aktiviteler de göstermesinin yanında kolesterol, diyabet, kardiyovasküler hastalıkları engelleyici etki göstermiştir (McKevith, 2004; Singh and Belkheir, 2013; Yaver ve Ertaş, 2013). Yapılan araştırmalar ile yulafın kolesterolü düşürerek kardiyovasküler hastalıkların riskini azalttığı gözlenmiştir (Anderson and Hanna 1999; Karmally et al., 2005; Thies et al., 2014). Yapılan araştırmalar sonucunda yulaf tüketiminin LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) kolesterolünün %3-10 aralığında ve kardiyovasküler hastalıkları ise %6-18 düzeyinde azalttığı bulunmuştur. Yulafın kardiyovasküler hastalığı önleyici bileşiğinin ise β -glukan olduğu saptanmıştır. Ayrıca β -glukan'ın kan şekeri ve kolesterolün düşürülmesine yardımcı olduğu da rapor edilmiştir (Martinez-Villaluenga and Peñas, 2017).

Yapılan araştırmalarda insüline bağlı olmayan şeker hastalarına farklı dozlarda β -glukan içeren kahvaltılık gevrekler verilmiş ve deney sonuçlarında kontrol örneklerine göre kan değerlerindeki glikoz ve insülin artışını önemli ölçüde düşürdüğu saptanmıştır. Ayrıca β -glukan'ın her gramında 4 ünite glisemik indeks düşüşü gözlemlenmiştir (Wood, 2007). Bu düşüşün nedeni ise, β -glukan'ın mide boşalmasını geciktirmesi, karbonhidratların enzimatik aktivitesinin yavaşlaması ve emilimini yavaşlatan yüksek viskoziteye sahip olmasıdır

(Martinez-Villaluenga and Peñas, 2017). Yüksek viskoziteye sahip polisakkaritlerin kandaki kolesterol miktarını düşürdüğü bilindiğinden, yulafın kandaki kolesterol seviyesinin düşmesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (Wood, 2007). Yapılan diğer araştırmalarda, günlük toplam 10 gram yulaf β -glukan tüketiminin gastrointestinal sistemi ve karbonhidrat metabolizmasını düzenlediği öne sürülmektedir (Yaver ve Ertaş, 2013).

Yulaf çok fonksiyonlu özelliklerinin olması ve besin profili gibi nedenlerle diğer tahıllardan farklıdır (Butt et al., 2008). Yulaf protein içeriği açısından zengin olup, demir, kalsiyum, potasyum, magnezyum, bakır, çinko, silikon, selenyum gibi mineraller ile B1, B2, B6, B12, niasin, C, A, ve E vitaminlerini içermektedir (Singh and Belkheir, 2013). Bu vitamin ve minerallerin varlığı, güçlü kemik ve dişler için faydalı olup, aynı zamanda sağlıklı sinir sistemi için de gereklidir. Yulaf proteinleri kalite açısından soya proteinlerine yaklaşık olarak eşdeğer olmakla beraber, Dünya Sağlık Örgütü'ne göre süt, et ve yumurta proteinlerine eşdeğerdir ve kabuksuz yulafın protein içeriği diğer tahıllardan daha fazladır. Ayrıca yulaf, depolama proteini olarak (%80) avenalin olarak adlandırılan globulin içeren tek tahıldır. Globulinler suda çözünürlüğü ile karakterizedir ve bu sebeple ekmek haline dönüştürülemez de süt haline dönüştürülebilmektedir (Singh and Belkheir, 2013). Ayrıca yulafın içerisinde kolesterolü düşürmeye yardımcı olan linoleik (%45,0) ve oleik asit (%30,4) gibi esansiyel yağlar bulunmaktadır ve magnezyum, potasyum ve kalsiyum gibi minerallerce zengindir (Viscidi et al., 2004; Kaur et al., 2014).

Kalp sağlığına katkı sağlayan folik asitçe zengin olan yulaf, sadece yulafa özgü bir antioksidan bileşik olan avenantramidlerin (antranilik asit amidler) oksijen içermeyen radikalleri inhibe ettiği rapor edilmiştir (Kaur et al., 2014). Avenanthramide-2c, yulafın içerisindeki avenanthramidler içerisinde en yüksek konsantrasyonu oluşturur ve antioksidan aktivitesi en yüksek olandır (Nie et al., 2006). Koroner kalp hastalıklarının habercisi olan vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), endotelial-lökosit adezyon molekülü-1 (E-selektin) ve hücreler arası adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) oluşumunun, yulaftan elde edilen avenanthramid karışımı ile inhibe edildiği görülmüştür (Hwang et al., 1997; Nie et

al., 2006). Nie et al. (2006) tarafından yapılan bir araştırmada, 40, 80 ve 120 μ M avenanthramide-2c kullanıldığında vasküler düz kas hücrelerinin çoğalmasını sırasıyla %41, 62 ve 73 oranında inhibe ettiği görülmüş olup, böylelikle damar sertliğini engelleyebileceği belirtilmiştir.

Gluten, yapıştırıcı anlamına gelen Latince kökenli “glue” kelimesinden türemiş bir kelimedir. Gluten, prolamin grubundan depo proteini olarak sınıflandırılmaktadır. Genel olarak ısıya dayanıklı ve gıdalar içerisinde bağlayıcı ajan olarak da kullanılmaktadır. İçeriğinde %75-86 oranında protein ve %5-10 oranında yağ bulunmaktadır. Gluten, 20 aminoasitten birisi olan prolini fazla miktarda içermesinden dolayı, sindirim sisteminde sindirimi zordur (Wieser, 2007; Özüğür ve Hayta, 2011; Biesiekierski, 2017). Gluten proteini, çözünebilir gliadin ve çözünemeyen gluteninler olarak iki ana fraksiyona ayrılmaktadır. İki fraksiyon da yüksek miktarda gliadin ve prolin içeren protein bileşenlerinden oluşmaktadır (Wieser, 2007). Gluten ile ilgili hastalıklar, gluten içeren gıdaların vücuda alınmasıyla genetik veya immunolojik olarak ortaya çıkmaktadır. Gluten gıdalar içerisinde bağlayıcı ajan ve duyuşal özellikleri geliştiren özellik taşımasına rağmen, bazı bireylerde çölyak hastalığı gibi rahatsızlıklara sebep olmaktadır. Belirtilen hastalıklar gluten varlığında bağırsaklardaki T hücrelerinin glutene karşı aktive olmasından kaynaklanmaktadır (Fasano et al., 2015).

Çölyak hastalığı Dünya nüfusunun %1-2'sini etkileyen genetik bir hastalıktır (Thompson et al., 2005; Özüğür ve Hayta, 2011). Tahılların prolamin grubundan depo proteini olan glutenin, vücut içerisinde sindirememesi olarak bilinmektedir (Green and Cellier, 2007; Saturni et al., 2010). Çölyak hastası bireyler, gluteni vücutlarına aldıklarında kabızlık veya ishal, kilo kaybı veya kilo alma, yorgunluk gibi çeşitli rahatsızlıklar geçirdiğinden dolayı yaşamları boyunca gluten içermeyen diyet yapmak zorundadır (Green and Cellier, 2007; Özüğür ve Hayta, 2011). Bu belirtilerin nedeni glutenin vücut içerisine alındığında, vücudun gluten varlığını antijen olarak algılamasından kaynaklanmaktadır. Çölyak hastalığı olan çocuk yaşlarda kusma, kısa boylu olma, karın şişliği, ishal, iştahsızlık, kilo almada sorun yaşanması gibi belirtileri tetiklerken; yetişkin bireylerde ise anemi, kısa boy, kemiklerin gelişmemesi, karaciğer rahatsızlıkları

gibi hastalıklara neden olmaktadır (Özüğür ve Hayta, 2011). Gluten tüketilmemesi, çölyak hastalığının tedavi yöntemi sayılmaktadır ve çölyak hastaları tedavi olmak için yaşamları boyunca gluten içeren ürünleri tüketememektedir (Thompson et al., 2005; Wild et al., 2010; Estévez et al., 2016). Çölyak hastaları bu diyetler sebebiyle, hayatları boyunca lif ve en önemlisi demir ve protein eksikliği sıkıntısı ile yaşamaktadırlar (Thompson et al., 2005; Özüğür ve Hayta, 2011). Yulaf ise gluten içermemesi açısından çölyak hastaları için uygun bir tahıl çeşididir. Demir ve protein bakımından zengin olması nedeniyle çölyak hastalarında oluşabilecek besin eksiklikleri için mükemmel bir besin kaynağı olma özelliği taşımaktadır (Green and Cellier, 2007; Comino et al., 2015; Rebello et al., 2015).

2.2 Isabella (*Vitis labrusca* L.) Üzümü

2.2.1 Isabella (*Vitis labrusca* L.) üzümünün özellikleri

Türkiye, bağcılığın çok eskiye dayanması nedeniyle, çok çeşitli türde üzümün anavatanı sayılabilmektedir. Türkiye'nin Doğu Anadolu ve Karadeniz bölgesi hariç bütün kısımlarında farklı üzüm çeşitleri ile bağcılık yapılabilmektedir. Doğu Anadolu ve çok yağış alan Karadeniz Bölgesi'nde ise Amerika üzümü, kokulu siyah üzüm, çilek üzümü, aromatik üzüm gibi isimlerle anılan "Isabella" üzümü yetiştirilmektedir (Cangi et al., 2006; Ekbiç vd., 2015). Isabella üzümü, *Vitis labrusca* L. türünün en önemli çeşitlerinden biridir. İlk olarak Amerika Birleşik Devletleri'nin güneyinde keşfedilmiş ve günümüzde Dünya çapında üretimi olan üzüm türüdür (Raymond et al., 2017). Türkiye'de ise genelde Karadeniz Bölgesi'nin sahil kesimlerinde doğal olarak yetişmekte ve toplu üretimi olmasa da genelde hane ihtiyacına göre evlerin bahçelerinde çardak sistemiyle yetiştirilmektedir (Çelik, 2001; Köse, 2014). Çardak sistemine göre yetiştirilme işlemi Şekil 2.3'te ve Isabella üzümü Şekil 2.4'te gösterilmiştir. Isabella üzümünün kabuğu kalın ve mavi renkli, iç kısmı ise yumuşak olan bu üzümün keskin bir aroması vardır. Isabella üzümünün yöresel olarak tüketimi genelde marmelat, meyve suyu, pekmez veya pestil şeklinde olup, tüketimi sırasında sadece pulp kısmı yenilmekte ve kabuk kısmı atılmaktadır (Çelik, 2001;

Köse, 2014; Kurt et al., 2017). Isabella üzümünün hasat zamanı ise Eylül-Ekim aylarıdır (Cazarin et al., 2013; Kurt et al., 2017).



Şekil 2.3. Karadeniz Bölgesi'nde çardak sistemiyle Isabella üzümünün yetiştirilmesi



Şekil 2.4. Isabella (*Vitis labrusca* L.) üzümünün salkım görüntüsü

Isabella üzümü yüksek polifenol, mineral ve vitamin bakımından zengindir (Toaldo et al., 2015). Yapılan araştırmalar ile Isabella üzümü ve üzümü suyunun kimyasal özellikleri ve mineral içeriği belirlenmiş ve sırasıyla Tablo 2.5 ve Tablo 2.6'da gösterilmiştir.

Tablo 2.5. Isabella üzümünün kimyasal özellikleri.

	Miktar	Referans
Toplam Karbonhidrat	14,64 (g/100 g üzüm)	Kurt et al. (2017)
Toplam Protein	6,2 (mg/mL üzüm kabuğu) 29,4 (mg/mL üzüm çekirdeği)	Mammadova et al. (2020)
Kül İçeriği	0,20 – 0,60 (g/100 mL üzüm suyu)	Granato et al. (2016)
Titrasyon asitliği	0,66 (TA g/L)	Toaldo et al. (2015) Burin et al. (2014)
Brix	12,20 – 20	Toaldo et al. (2015) Paredes Tuanama (2019) Burin et al. (2014)
pH	3,03 – 3,5	Toaldo et al. (2015) Kurt et al. (2017) Paredes Tuanama (2019)

Tablo 2.6. Isabella üzüm suyunun mineral değerleri (Toaldo et al., 2015)

Mineral	Miktar (mg/L)
Potasyum	23,47 ± 0,07
Sodyum	55,29 ± 0,88
Kalsiyum	57,13 ± 0,85
Magnezyum	90,82 ± 0,89
Demir	1,17 ± 0,01
Çinko	0,66 ± 0,00

Aynı zamanda Isabella üzümünün tüm tane baz alındığında fenolik içeriği diğer kırmızı üzümlere göre daha fazladır. Bu sebeple Isabella üzümünden hazırlanan içecekler antioksidan içecek olarak adlandırılabilceği rapor edilmiştir (Santos et al., 2011; Yamamoto et al., 2015). Yapılan bir araştırmaya göre,

Isabella üzümü içerisinde fenolik bileşik olarak en fazla kaftarik asit bulunmakta olup, kaftarik asit miktarı üzümün kendisi için 16,1 µg/100 g üzüm, üzüm suyu içerisinde ise 167,43-365,5 mg/L aralığında olduğu tespit edilmiştir (Nixdorf and Hermosín-Gutiérrez, 2010; Burin et al., 2014; Toaldo et al., 2015; Padilha et al., 2017). Isabella üzümü içerisinde bulunan diğer fenolik bileşikler ise Tablo 2.7’de gösterilmiştir.

Tablo 2.7. Isabella üzümünün fenolik içeriği (Toaldo et al., 2015).

Fenolik Asitler	Değer (mg/L)
Gallik	11,51
Vanilik	108,47
Siringik	28,15
Ellagic	18,20
Kafeik	14,08
Trans-kaftarik	167,43
<i>p</i> -Koumarik	10,73

Isabella üzüm suyunun toplam fenolik içeriği 113,2 mg/L olarak bulunmuş, fakat üzüm suyu yapımında üzüm çekirdekleri de kullanılırsa bu değerlerin 973,6 mg/L olabileceği rapor edilmiştir. Bu sebeple Isabella üzümü tüketilirken çekirdeği ve kabuğuyla beraber tüketilirse daha fazla fenolik bileşikten yararlanılacağı düşünülmektedir (Toaldo et al., 2013). Yapılan farklı araştırmalarda farklı mevsimlerde toplanan Isabella üzümünün fenolik değerlerinin ise 22,4-113,2 arasında değişebileceği belirtilmiştir (Toaldo et al., 2013; Lima et al., 2015). Yapılan araştırmalarda Isabella üzümünün toplam flavanol içeriği 72,4 mg/L, toplam fenolik içeriği 779 mg/L ve toplam antosiyanin içeriği ise 29 mg/L olarak bulunmuştur (Lima et al., 2014).

2.2.2 Isabella üzümünün antimikrobiyal ve antifungal etkileri

Asmanın türüne göre, fungi, bakteri ve virüs kaynaklı çeşitli hastalıklara direnci de değişmektedir. Bu hastalıklar beraberinde ürün kaybını da getirmektedir. Isabella üzümü diğer üzümlere kıyasla yetiştirilme süresi boyunca farklı mantar kaynaklı hastalıklardan etkilenmemesinden dolayı çok fazla ilaçlama gerektirmemektedir (Ekbiç vd., 2015). Isabella üzümü Karadeniz Bölgesi'nin yağışlı koşullarına dayanıklı olmasının yanında, fungal hastalıklara da dirençlidir (Cangi et al., 2006). Ayrıca Isabella üzümünün *Xylella fastidiosa* tarafından meydana gelen pierce hastalığına ve mildiyö hastalığına karşı da direnç göstermesi Isabella'nın Güney Amerika'da doğal seçimle yaygın olarak ekiminin yapılmasına neden olmuştur (Jackson, 2008; Köse, 2014). Isabella üzümü fungal hastalıklara dirençli olmasından dolayı, bazı ülkelerde ve bölgelerde *Vitis vinifera* cinsi üzüm ile çaprazlanarak *Vitis vinifera* üzümünün mantar hastalıklarına dayanıklı hale gelmesi amaçlanmıştır (Solak, 2012). Yapılan araştırmalara göre Isabella türü üzümün, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* gibi Gram (+); *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium* ve *Escherichia coli* gibi Gram (-) patojenlere, *Aspergillus flavus* ve üzüm bağları için çok büyük tehdit oluşturan *Botrytis cinerea* gibi küflerin üzerinde inhibe edici etkisi olduğu tespit edilmiştir (Kulakiotu et al., 2004; Vodnar et al., 2017; Gündüz et al., 2019).

2.2.3 Isabella üzümünün sağlık üzerine etkileri

Isabella üzümü kansere karşı etkileri ile bilinen resveratrol bileşiği bakımından zengindir ve üzümünün kabuğunda yoğun miktarda bulunmaktadır. Ancak, bu üzüm türü genellikle taze olarak tüketildiğinde kabuğu ile birlikte tüketilmediğinden, Isabella üzümünün taze tüketilmesiyle kabukta bulunan resveratrol den yararlanılamamaktadır. Resveratrol den yararlanılabilmesi için, Isabella üzümünün kabuğuyla tüketilmesi veya meyve suyu, pekmez, pestil gibi ürünlere işlendiğinde kabuğun da kullanılması uygun olacaktır (Çelik, 2001; Oruç and Dursun, 2017). Resveratrolün bilinen sağlık etkileri ise;

- trombositlerin bir araya toplanmasını engeller,
- düşük yoğunluklu proteinlerin (LDL) oksidasyonunu indirger,
- kardiyovasküler hastalıklara karşı direnci destekler,
- antioksidan ve antiinflammatuar etki göstererek vücudun dengesinin korunmasını sağlar,
- oksidatif stres sonucu oluşan hücre yıkımlarını engeller (Artık vd., 2016).

Yapılan araştırmalarda ABD’de toplanan Isabella üzümü içerisinde bulunan trans-resveratrol oranı 83,45 mg/kg olarak belirlenmişken, başka bir çalışmada ise 35,0 µmol TEAC/100 g olarak belirlenmiştir (Burin et al., 2014; Silva Haas et al., 2018). Yapılan bir diğer çalışmada 4 farklı üzüm kabuk, pulp ve çekirdekleri içerisindeki trans-resveratrol değerleri karşılaştırılmış ve Isabella üzümünün kabuğunda 12,96 µg/g değerinde, çekirdeğinde ise 2,35 µg/g değerinde trans-resveratrol içeriği bulunmuştur. Diğer üzümlerle karşılaştırıldığında, Isabella üzümü’nde bulunan trans-resveratrol içeriğinin yaklaşık 3,5 kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (Santos et al., 2011). Yapılan çalışmalarda Isabella cinsi üzümlerin, karşılaştırılan diğer üzüm türleri içerisinde diğerlerine kıyasla daha fazla trans-resveratrol içermesi sebebiyle daha yüksek antioksidan etki gösterdiği tespit edilmiştir (Santos et al., 2011; Burin et al., 2014; Toaldo et al., 2015).

Isabella (*Vitis labrusca* L.) üzüm suyu içerdiği yüksek resveratrol miktarı ile yapılan *in-vivo* testlerde hücrenin ölümüne sebebiyet veren ve Alzheimer gibi hastalıklara yol açabilen lipid peroksidasyonunu engellediği görülmüştür (Toaldo et al., 2015; Yang and Stockwell, 2016; Gaschler and Stockwell, 2017). Fransız Paradoksu olarak bilinen yağ oranı yüksek yiyeceklerle beraber belli bir miktar şarap tüketiminin kardiyovasküler hastalıkların azaltmak için kullanılabilir. Fakat yapılan araştırmalar ile şarabın içerisinde bulunan alkolün, kandaki trigliserit miktarını arttırarak kardiyovasküler hastalıklara sebep olabileceği saptanmıştır. Şarabın içerisinde bulunan alkolün uzaklaştırılmasıyla

beraber kardiyovasküler hastalıkların azalabileceği ve aynı zamanda lipid peroksidasyonunun engellenebileceği gözlemlenmiştir (Berrougui et al., 2009; Mihailovic-Stanojevic et al., 2016). Ayrıca lipid peroksidasyonunun yanında, damar içi düz kas hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasının inhibisyonu, makrofajlar sebebiyle oluşan iltihaplanmanın engellenmesi, trombositlerin toplanmasını engellemesi gibi etkileri nedeniyle resveratrolün damar hastalıklarını inhibe ettiği düşünülmektedir (Berrougui et al., 2009).

2.3 Probiyotik Mikroorganizmalar ve Probiyotik Bitkisel Gıdalar

2.3.1 Probiyotik mikroorganizmalar

İnsan bağırsağında 500'den fazla bakteri türünün bulunduğu ve bu mikroorganizmaların bağırsak hacminin %35-50'si kadar yer kapladığı tahmin edilmektedir (Isolaure et al., 2004). İnsan vücudunda bulunan mikroorganizmalar, vücutta bulundukları yere göre gruplandırılarak Tablo 2.8'de verilmiştir.

Tablo 2.8. İnsan vücudunun farklı bölümlerinde bulunan mikroorganizmalar (Isolaure et al., 2004).

Vücutun Bölümleri	Mikroorganizma Düzeyi	Mikroorganizma Cinsi
Mide	10^4 KOB/g	<i>Candida albicans</i>
		<i>Helicobacter pylori</i>
		<i>Lactobacillus</i> spp.
		<i>Streptococcus</i> spp.
		<i>Candida albicans</i>
12 Parmak Bağırsağı	$10^3 - 10^4$ KOB/g	<i>Bacteroides</i> spp.
		<i>Lactobacillus</i> spp.
		<i>Streptococcus</i> spp.
		<i>Candida albicans</i>
İnce Bağırsak	$10^5 - 10^7$ KOB/g	<i>Bacteroides</i> spp.
		<i>Lactobacillus</i> spp.
		<i>Streptococcus</i> spp.
İnce Bağırsağın Sonu	$10^7 - 10^8$ KOB/g	<i>Bacteroides</i> spp.

(İleum)		<i>Lactobacillus</i> spp. <i>Clostridium</i> spp. <i>Enterobacteriaceae</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp. <i>Veillonella</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp. <i>Bacillus</i> spp. <i>Clostridium</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp.
Kalın Bağırsak	$10^{10} - 10^{11}$ KOB/g	<i>Eubacterium</i> spp. <i>Fusobacterium</i> spp. <i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>Ruminococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp.

Yapılan araştırmalarla insan gastrointestinal sisteminde sıklıkla bulunan mikroorganizma türleri araştırılmış ve yapılan 16s RNA sekans analizlerinde, *Ruminococcus obeum*, *Eubacterium halii* ve *Fusobacterium prausnitzii* türlerinin insanlarda yaygın olarak bulunduğu gözlemlenmiş ve insanların gastrointestinal sağlığı üzerinde önemi bir rol oynadığı belirlenmiştir (Holzapfel and Schillinger, 2002). Belirtildiği gibi insan bağırsağı, insan sağlığına zararlı ve yararlı birçok mikroorganizma içermektedir. Faydalı özelliklere sahip bakteriler probiyotikler olarak adlandırılmaktadır. Probiyotik özellikteki mikroorganizmalar sıklıkla *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerine ait olup, bu bakterilerin sağlık üzerine önemli etkileri bulunmaktadır (Isolauri et al., 2004).

Probiyotikler, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından, yeterli miktarda vücuda alındığında konak canlıının gastrointestinal sistemi üzerinden olumlu etki gösteren canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (FAO/WHO, 2002). Mikroorganizmaların probiyotik olarak adlandırılabilmesi için patojen olmaması, bağırsakta koloni oluşturması, patojenlerin bağırsak epiteline tutunmasının engellenmesi, mutasyona dirençli olması, bağışıklık sistemini güçlendirmesi, safra

ve midenin asidik ortamında zarar görmemesi ve bağırsağa kadar ulaşabilmesi, bağışıklık sistemini harekete geçirmesi, laktik asit gibi metabolitler üretebilmesi, gıdanın depolama süresi boyunca canlı kalması, antibiyotiğe direnç geni taşımıyor olması ve bağımsız farklı merkezlerden en az faz iki testini geçmesi ve insan sağlığına yararlı etkisinin olması gibi özelliklere sahip olmalıdır (FAO/WHO, 2001; Ray and Bhunia, 2007; Borchers et al., 2009; Gupta and Garg, 2009).

Probiyotik içeren fonksiyonel gıdaların, probiyotik olarak isimlendirilebilmesi ve tüketici sağlığına ve gastrointestinal sistemi üzerinde olumlu etki gösterebilmesi için 10^6 KOB/g gıda düzeyinde probiyotik içermelidir. Ancak probiyotiklerin konak canlı üzerinde belirtilen sağlık etkilerinin görülebilmesi için, gıda içerisinde 10^8 – 10^9 KOB/ml olması ve vücuda belirtilen düzeyde alınması gerekmektedir (FAO/WHO, 2002; Nagpal et al., 2012; Martins et al., 2013; Stringheta et al., 2007; Cencic and Chingwaru, 2010; Granato et al., 2010; Randazzo et al., 2016; Sidira et al., 2017). *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus* ve *Saccharomyces* cinslerinin bazı türleri probiyotik olarak sınıflandırılmaktadır. Keşfedilen ilk probiyotik *Lactobacillus rhamnosus* LGG'dir ve 1985'te keşfedilmiştir (Gupta and Garg, 2009). Günümüzde bilinen ve yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalar Tablo 2.9'da listelenmiştir.

Tablo 2.9. Yaygın olarak kullanılan probiyotikler (Ray and Bhunia, 2007; Lebaka et al., 2018).

<i>Lactobacillus</i> spp	<i>Bifidobacterium</i> spp.	Diğer LAB
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Bacillus toyoi</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917
<i>L. gasseri</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. longum</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>

<i>L. paracasei</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>L. reuteri</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>L. rhamnosus</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>L. salivarius</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>bulgaricus</i>	

Fermantasyon sürecinin, gıdaların raf ömrünü uzatmasının yanında gıdaların mineral biyoaktivitesini arttırmak, karbonhidrat ve protein gibi makro besin elementlerinin tüketimini kolaylaştırmak gibi sağlık etkileri vardır. Bu sebeple günümüzde probiyotik ve prebiyotik içeren fonksiyonel gıdaların sağlık üzerine etkilerinin yüksek olmasından dolayı insanların günlük diyetlerinde yer edinmiştir (Martins et al., 2013; Altay et al., 2013; Silva and Ferrari, 2016). Bu sağlık etkilerinin arasında laktozun hidroliz edilmesi ile alerjik reaksiyonların azaltılması, yüksek kolesterolün engellenmesi, bağırsak geçirgenliğinin kontrol edilmesi, kolon kanseri riskinin azaltılması, bakterilerin öldürülmesi veya kolonizasyonun engellenmesiyle olası enfeksiyonların önlenmesi, bağışıklık sisteminin kontrolü, dışkı enzimatik ve üre mutajenitesi kontrolü, bağırsaklarda mikroorganizmalar tarafından oluşturulan toksinlerin nötralizasyonu, *Helicobacter pylori* gibi ülserle sebep olan bakterilerin baskılanması gibi özellikler yer almaktadır (Roberfroid, 2000; Ray and Bhunia, 2007; Kumar et al., 2015). Bazı spesifik bakterilerin sağlık üzerindeki olumlu etkileri Tablo 2.10'da gösterilmiştir.

Tablo 2.10. Probiyotik bakterilerin sağlık etkileri (Drisko et al., 2003)

Mikroorganizma	Sağlık Etkileri
<i>Enterococcus faecium</i>	Gastroenteritis kaynaklı akut ishali azaltır.
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Polip ve kolon kanserini azaltır. Kandaki kolesterol miktarını azaltır. <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> kaynaklı idrar yolu enfeksiyonunu engeller.
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Rotavirüs kaynaklı ishali engeller. Polip ve kolon kanserini azaltır. Gıda alerjisini ve atopik dermatiti azaltır. <i>Clostridium difficile</i> kaynaklı ishali azaltır. Turist ishali riskini azaltır.
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Akut ishalin süresini kısaltır. Akut gastroenterit süresini azaltır.
<i>Lactobacillus salivarius</i>	<i>Helicobacter pylori</i> gelişimini baskılar.
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> ve <i>Enterococci</i> bakterilerini inaktive eder. Gıdalarda vitamin ve antioksidan oluşumunu ve korunmasını sağlar. Gıda içerisindeki toksik bileşenleri azaltır.
<i>Saccharomyces boulardii</i>	<i>Clostridium difficile</i> kaynaklı ishali azaltır. Akut gastroenterit süresini azaltır. HIV bağlantılı kronik ishali azaltabilir.

Probiyotikler, antimikrobiyal maddeler üreterek ve bağırsak ortamının pH'ını düşürerek bağırsaklardaki patojen bakterilerin tutunmasını ve çoğalmasını engellemektedir (Piqué et al., 2019). *Bifidobacteria* türleri asetik asit ve laktik asit üretmekte, laktik asit bakterileri ise laktik asit gibi fermantasyon sonu metabolitleri üretmektedir. Probiyotikler tarafından üretilen, patojen gelişimini inhibe edebilen diğler metabolitler ise hidrojen peroksit, diasetil, bakteriosinler ve diğler antimikrobiyal maddeler sayılabilir (Nagpal et al., 2012). Bazı probiyotik türleri tarafından üretilen antimikrobiyal maddeler Tablo 2.11'de özetlenmiştir.

Tablo 2.11. Probiyotik bakteriler ve ürettiği antimikrobiyal maddeler (Lu et al., 2009; Nagpal et al., 2012; Yan and Polk, 2012)

Probiyotik	Antimikrobiyal Madde
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (LGG)	NPSRQERR, VHTAPK, PDENK ve diğer 4 farklı küçük peptit grubu ile Gram + ve Gram – bakterileri inhibe eder
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Reuterin Nisin
<i>Lactobacillus lactis</i>	Laktostrepsin Laktosin Laktisin
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	Bulgarikan
<i>Lactobacillus brevis</i>	Laktobasilin Laktobrevin
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Pediosin
<i>Pediococcus acidilactis</i>	Pediosin
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Streptofilin
<i>Enterococcus faecium</i> DPC1146	Enterosin

2.3.2 Probiyotik meyve suları

Süt ve süt ürünleri probiyotiklerin gelişimi için iyi bir gıda matrisidir, ancak dislipidemi gibi kolesterol sınırlandırıcı hastalıkları, laktoz intoleransı veya süt proteinlerine alerjisi olan insanlar için sağlık sıkıntıları yaratmaktadır. Ayrıca vegan görüşe sahip ve çeşitli tercihler nedeniyle süt ve süt ürünü tüketmek istemeyen bireyler için günümüzde bitkisel içerikli ürünler üretilmektedir (Ranadheera et al., 2010; Peres et al., 2012; Silva and Ferrari, 2016). Ananas, elma, kaju elması, portakal, kavun, muz, mango, limon, çilek ve yabanmersini gibi çeşitli meyvelerle probiyotik içecekler ticari olarak üretilmektedir. Aynı zamanda portakal, ananas, kıvılcık, çilek, kivi, şeftali, nar ve havuç gibi meyve ve sebze sularıyla da probiyotik ürün araştırmaları yapılmaktadır (Kyung et al., 2005;

Sheehan et al., 2007; Ding and Shah, 2008; Pereira et al., 2011; Fonteles et al., 2013; Perricone et al., 2015; Patel, 2017).

Meyve sularının besin değeri yüksek olup, içerisinde bulunan veya sonradan ilave edilebilen askorbik asit gibi maddelerle ürün içerisindeki oksijeni azaltarak probiyotiklere uygun anaerobik ortam yaratmaktadır. Her ne kadar düşük pH probiyotikler üzerinde negatif etki yaratsa da, meyve sularının içerisinde bulunan yüksek şeker miktarı, antioksidanlar ve vitaminler probiyotiklerin gelişmesini destekleyici faktörlerdir (Ding and Shah, 2008). Yapılan araştırmalarda meyve sularında bulunan çeşitli vitaminlerin genom hasarlarını iyileştirici etkisinin olduğu gözlemlenmiştir; meyve sularının içerisine probiyotik eklenmesinin ise insan sağlığı açısından daha iyi sonuçlar elde edileceği düşünülmektedir (Perricone et al., 2015). Üzüm ve üzüm suları probiyotikler için yeterli miktarda şeker, antioksidan ve vitaminlerin yanında %21,2- 72,5 arasında prebiyotik olarak frukto-oligosakkarit içermektedir. Günümüzde ticari olarak satışları yapılmaktadır (Agte et al., 2010; Martins et al., 2013; Silva and Ferrari, 2016; Patel, 2017). Meyve sularında genel olarak *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus* ve *L. plantarum* kullanıldığı kaydedilmiştir (Perricone et al., 2015). Literatürde meyve suları ile hazırlanan probiyotikli içeceklerle ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, farklı meyve sularında farklı probiyotik suşların gelişimi araştırılmış ve farklı sonuçlar alınmıştır. AdebayoTayo and Akpeji (2016) tarafından yapılan bir araştırmada, ananas suyu *Pediococcus pentosaceus* LaG1, *L. rhamnosus* GG ve *P. pentosaceus* LBF2 ile 37°C’de 72 saat boyunca fermente edilmiş ve probiyotik ananas suyu üretilmiştir. Fermantasyonu tamamlanan örnekler 4°C’de 4 hafta boyunca depolanmış olup, depolama süresi sonunda hazırlanan tüm örneklerin probiyotik mikroorganizma içeriği 9 log KOB/mL olarak bulunmuştur. Yapılan analizlerde ananas suyunun laktoz intoleransı olan bireyler için sağlığı destekleyici probiyotik ürün olabileceği belirtilmiştir. Miranda et al. (2019) tarafından *Lactobacillus casei* 01 kullanılarak yapılan araştırmada aktifleştirilmiş kültürler için 0,05 ml kültür 10 ml portakal sularına eklenmiş ve 37°C’de 15 saat fermente edilmiştir. Fermantasyonu tamamlanan portakal suyu 300 ml portakal suyuna aktarılmış ve 37°C’de 15 saat tekrar inkübe edilmiştir. Direkt ekim yönteminde ise liyofilize kültür portakal suyuna aktarılmış ve fermantasyonu

tamamlanan örnekler ile beraber 7°C’de 28 gün depolanmıştır. Depolama süresince 7 log KOB/ml seviyesinin üzerinde kalmış ve ürünler probiyotik özelliğini korumuştur. Yapılan araştırma süresince probiyotik ekim yöntemi fark etmeksizin portakal suyunun *L. casei* için uygun bir ortam olduğu belirtilmiştir. Zhu et al. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada elma, portakal ve domates suyu içerisine *Lactobacillus sanfranciscensis* eklenmiş ve 4°C’de 28 gün depolanmıştır. Depolama süresinin sonunda meyve suyu örneklerinin de probiyotik sayısı 10^6 – 10^7 KOB/mL olarak belirlenmiştir ve ürünlerin probiyotik özelliğini koruduğu saptanmıştır. Elde edilen bulgulara göre elma, portakal ve domates suyunun probiyotikler için uygun bir taşıyıcı olduğu belirtilmiştir. Lu et al. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada ise *Lactobacillus helveticus* L10, *Lactobacillus paracasei* L26 ve *Lactobacillus rhamnosus* HN001 suşları kullanılarak probiyotik meyve suyu içeceği örnekleri hazırlanmıştır. Meyve suyu örneği olarak yıldız meyvesinin suyu kullanılmıştır. Elde edilen meyve suyunun içerisine probiyotik kültürler ayrı ayrı eklenmiş ve 30°C’de 8 gün boyunca inkübe edilmiştir. Fermantasyon başlangıcında 6 log KOB/ml’nin altında olan probiyotik sayısı, fermantasyon sonunda 8 log KOB/ml seviyesine yükselmiştir. Yapılan araştırmada yıldız meyvesini probiyotiklerin canlılığını desteklediği görülmüştür.

Farklı meyve sularının probiyotikleri desteklediği literatür tarafından kanıtlanmış olsa da yapılan farklı literatür çalışmalarında probiyotiklerin, meyve sularının gıda matrisinden ve fiziksel özelliklerinden kaynaklı olarak canlılığının olumsuz etkilendiği de tespit edilmiştir (Tablo 2.12). Valero-Cases et al. (2017) tarafından domates ve feijoa (kaymak ağacı meyvesi) meyve suyu kullanılarak yapılan araştırmada, örneklerin içerisine *L. plantarum* ATCC 8014 eklenmiş ve 37°C’de 24 saat boyunca fermente edilmiştir. Elde edilen örneklerde fermantasyon sonunda domates suyu örneklerinde probiyotik sayısı 8 log KOB/ml üzerinde ve feijoa suyu örnekleri için probiyotik sayısı 6 log KOB/ml üzerinde olduğu saptanmıştır. Yapılan çalışmada feijoa suyunun domates suyuna kıyasla probiyotikler için elverişli bir ortam sağlamadığı belirtilmiştir. Garcia et al. (2018) tarafından yapılan araştırmada ise *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus fermentum* ve *Lactobacillus pentosus* kullanılarak probiyotik elma, portakal ve üzüm suyu hazırlanmış ve 4°C’de 21

gün boyunca depolanmıştır. Başlangıç probiyotik sayısı 8-9 log KOB/ml olan örneklerde, üzüm suyu örnekleri için 7. günden sonra sayının 6 log KOB/ml'nin altına düştüğü için örnekler probiyotik özelliğini kaybetmiştir. Yapılan çalışmada *L. plantarum* ve *L. paracasei* suşları asidik koşullara daha iyi uyum sağladığı belirtilmiş fakat 14 günün sonunda probiyotik sayısının düştüğü belirtilmiştir. Hazırlanan örneklerde probiyotiklerin asidik koşullardan etkilendiği belirtilmiş olup, ön uygulama olarak asidik stres koşullarına uyum sağlanmasının probiyotiklerin canlılığını destekleyebileceği önerilmiştir.

Tablo 2.12. Meyve sularında kullanılan probiyotik suşlar ve meyve sularının probiyotiklere etkileri (Perricone et al., 2015)

Meyve Suyu	Probiyotik Mikroorganizmalar ve Meyve Suyunun Etkileri
Çilek	<i>L. casei</i> hariç diğer probiyotiklerde inhibe edici özellik göstermiştir.
Ananas	<i>L. plantarum</i> üzerinde inhibe edici etki gösterirken <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. paracasei</i> ve <i>L. reuteri</i> canlılığını korumuştur.
Kivi	<i>L. plantarum</i> üzerinde inhibe edici etki göstermiştir.
Şeftali	Probiyotikler üzerinden indirgeyici veya destekleyici etkisi yoktur.
Portakal	<i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> ve <i>L. paracasei</i> canlılığını korumuştur.
Yabanmersini	<i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> ve <i>L. paracasei</i> canlılığını kaybetmiştir.
Nar	<i>L. plantarum</i> ve <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. paracasei</i> ve <i>L. acidophilus</i> suşlarına kıyasla daha dirençlidir.
Domates	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. brevis</i> ve <i>L. plantarum</i> için uygun ortam içermektedir.

Meyve suyuna eklenen probiyotiklerin canlılığını daha uzun süre devam ettirebilmeleri ve sindirim sistemini canlı bir şekilde geçerek bağırsaklara ulaşabilmesi için enkapsülasyon ve immobilizasyon gibi farklı yöntemler uygulanmaktadır. Chaikham (2015) tarafından yapılan bir araştırmada *L. casei* 01, *L. acidophilus* La-5 ve *B. lactis* Bb-12 probiyotik suşları ile çeşitli bitkisel materyaller kullanarak aljinat mikroenkapsülasyonu yapılmıştır. Elde edilen enkapsüle edilmiş ve enkapsüle edilmemiş kontrol grubu mikroorganizmalar, dut, ejderha gözü (longan), maoberry ve kavun suyu içerisine eklenerek 4°C'de 30 gün

boyunca depolanmıştır. Depolama süresince *L. acidophilus* La-5 suşu dut ve maoberry örneklerinde mikroenkapsülasyon yapılan ve yapılmayan örneklerde 20. günden sonra probiyotik özelliğini kaybetmiş; ejderha gözü (longan) ve kavun suyu örneklerinde ise enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* La-5 suşu 30 günlük depolama sonuna kadar probiyotik özelliğini korumuştur. Horáčková et al. (2018) tarafından yapılan araştırmada enkapsüle edilmiş ve edilmemiş *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 eklenerek çilek-elma ve ananas suyuna katılarak probiyotik meyve suyu örnekleri hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler 24 saat boyunca 37°C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyonu tamamlanan örnekler 8±1°C ve 22±1°C’de 28 gün boyunca depolanmıştır. 8±1°C’de bekletilen örneklerden enkapsülasyon yapılmamış çilek-elma suyu örneklerinin probiyotik sayısı depolama sürecinin dördüncü haftasında 6 log KOB/ml’nin altına düştüğü için probiyotik özelliğini kaybetmiş, 22±1°C’de bekletilen çilek-elma örneklerinde ise enkapsüle edilmiş ve edilmemiş kültürler ilk hafta probiyotik özelliğini yitirmiştir. Ananas suyu örnekleri 28 günlük depolamanın sonuna kadar enkapsülasyon edilmiş ve edilmemiş kültürler içeren örnekler için probiyotik özelliğini korumuştur. Yapılan analizlerde çilek-elma suyu örneklerinin enkapsüle edilmiş ve edilmemiş probiyotik suşlar için uygun bir ortam olmadığı belirtilmiş, ananas suyunun ise probiyotik *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 için ise uygun ortam sağladığı görülmüştür. Mantzourani et al. (2018) tarafından yapılan araştırmada kızılıçık suyuna yulaf kepeği ile immobilize edilmiş ve edilmemiş *L. plantarum* ATCC 14917 eklenmiştir. Hazırlanan kızılıçık suyu 30°C’de 24 saat fermente edilmiştir. Fermantasyonu tamamlanan örnekler 4°C’de 4 hafta boyunca depolanmıştır. Depolama süresince örneklerin probiyotik sayısı immobilize kültür içeren örnekler için 9,95 log KOB/ml olarak, immobilize edilmemiş örneklerde kültür sayısı 7,36 log KOB/ml olarak belirlenmiştir.

Probiyotik özellikli bitkisel ürünler konusunda yapılan bazı çalışmalar Tablo 2.13’te özetlenmiştir.

Tablo 2.13. Probiyotik bitkisel ürünler konusunda yapılan çalışmalar

Kullanılan Meyve/Sebze /Tahıl	Kullanılan Probiyotik	Probiyotik bakteri Sayısı		Referans
		Fermantasyon sonrası	Depolama sonrası	
Elma suyu	<i>L. acidophilus</i>	8,7-10,3 log	Direkt ekleme:	Espírito-Santo et al. (2011)
	<i>L. rhamnosus</i>	KOB/ml	3,27-4,77 log	
	<i>L. casei</i>		KOB/ml	
	<i>L. paracasei</i>		Fermantasyon:	
	<i>L. plantarum</i>		0,64-4,01 log	
Üzüm suyu			KOB/ml	Malganji et al. (2016)
			(28 gün depolama)	
	<i>L. plantarum</i>	7,59-8,44 log	6,94-8,3 log	
	<i>L. delbrueckii</i>	KOB/ml	KOB/ml	
Acı kabak, Sukabağı, Havuç	<i>L. rhamnosus</i>		(28 gün depolama)	Sharma and Mishra (2013)
	<i>L. acidophilus</i>	7,30-8,0 log	4,3-7,2 log	
	<i>L. plantarum</i>	KOB/mL	KOB/ml	
	<i>P. pantosaceus</i>		(4 hafta depolama)	
Kızılcık, Nar	<i>L. plantarum</i>	8 log KOB/ml	Nar: <6 log KOB/ml	Nuallkaekul and Charalampopoulos (2011)
			(2 hafta depolama)	
			Kızılcık: <1 log KOB/ml	
			(1 hafta depolama)	
Şeftali suyu	<i>L. plantarum</i>	> 10 ⁵ KOB/ml	<i>L. casei</i>	Pakbin et al. (2014)
	<i>L. casei</i>		4,99 log	
	<i>L. delbrueckii</i>		KOB/ml	
			(1 haftalık depolama)	

2.3.3 Tahıl bazlı probiyotik gıdalar

Tahıllar ve tahıl bileşenleri, prebiyotik etki sağlayarak probiyotik mikroorganizmalar için substrat olarak kullanılabilirler. Süt ve süt ürünlerinin probiyotikler için iyi bir matris içerdiği bilinse de tahıl ve tahıl içeren ürünler insan beslenmesine probiyotik, prebiyotik ve diyet lifleri dahil etme fırsatı sunmaktadır (Lamsal and Faubion, 2009). Fermente edilmiş tahıl ürünlerinin işlenmemiş ürün ile karşılaştırıldığında, besleyici özellikleri artmakta ve ürünlerin raf ömrü daha uzun olmaktadır (Hassan et al., 2012).

Yapılan araştırmalarda yulafın *Lactobacillus* türleri için uygun substratlar içerdiği saptanmıştır (Enujiugha and Badejo, 2017). Yulaf, probiyotik mikroorganizmaların gelişebilmesi için uygun substratlar içermesinin yanında, antioksidan ve fenolik bileşikler gibi biyoaktif bileşenler de içermektedir (Chen et al., 2020). Yulafın içerdiği besinler ile kan şekerini ve kolesterolünü düşürmesi gibi sağlık etkenlerinin yanında, tahıl bazlı ürünlere probiyotiklerin eklenmesi ile sağlık üzerindeki olumlu etkileri artmaktadır (Shori, 2015; Wang et al., 2018). Bu sebeple yulaf inovatif fonksiyonel gıdalar için popüler bir seçim olmaktadır (Chen et al., 2020). Tahıl bazlı probiyotik ürünlerin sayısı gün geçtikçe artmaktadır (Aspri et al., 2020). Tahıllar ile yapılan fermente ürünler ve içerdiği canlı hücre sayıları Tablo 2.14'te gösterilmiştir.

Tablo 2.14. Tahıllar ile yapılan fermente probiyotik ürünler ve içerdiği canlı hücre sayıları (Aspri et al., 2020)

Tahıl Bazlı Probiyotik Ürün	Probiyotik Türü	Canlı Hücre Sayısı
Mısır ve pirinç bazlı probiyotik içecek	<i>L. plantarum</i> <i>L. acidophilus</i>	10^7 KOB/mL (28 günlük depolama)
Fermente yulaf unu	<i>S. thermophilus</i> <i>L. acidophilus</i> La-5	10^6 KOB/g (21 günlük depolama)
Fermente yulaf unu içeceği	<i>L. plantarum</i>	10^{14} KOB/mL (28 günlük depolama)
Malt içeceği	<i>L. plantarum</i> <i>L. acidophilus</i>	10^8 KOB/mL (fermantasyon sonu)

Darı bazlı probiyotik içecek	<i>L. rhamnosus</i>	10 ⁶ KOB/g (5 günlük depolama)
Yulaf bazlı simbiyotik içecek	<i>Rhizopus oryzae</i> <i>L. acidophilus</i>	10 ⁸ KOB/mL (fermantasyon sonu)
Buğday bazlı probiyotik içecek	<i>L. acidophilus</i>	10 ⁸ –10 ¹⁰ KOB/mL (fermantasyon sonu)
Buğday/pirinç bebek ürünü	<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12	10 ⁶ KOB/g (106 haftalık depolama)

Literatürde yapılan çalışmalar içerisinde, tahıllara işlem uygulayarak veya farklı tahıllar ile işlem yaparak probiyotiklerin canlılığı kontrol edilmiştir. Helland et al. (2004) tarafından yapılan bir araştırmada *L. acidophilus* La-5, *B. animalis* BB12 ve *L. rhamnosus* LGG kullanılarak mısır ve pirinç unu içeren tahıl bazlı su ve süt içerikli puding üretimi yapılmıştır. 4°C’de 21 günlük depolama süreci sonunda süt ile yapılan karışımlarda tüm bakteriler gelişim gösterip, canlılığını sürdürebilirken; su bazlı pudinglerde *L. acidophilus* La-5 canlılığını srdremezken, *L. rhamnosus* LGG gelişim göstermiştir. Su bazlı ürünlerde probiyotiklerin gıda matrisi içerisinde ihtiyaç duyduğu aminoasit, vitamin ve mineraller gibi bileşenler bulunmadığından probiyotiklerin sayısında düşüş yaşanabileceği belirtilmiştir. Hole et al. (2012) tarafından yapılan araştırmada, tam tahıl buğday ve kabuğu ayrılmış yulaf tanesi un haline getirilmiş ve 9 gram un 11 g saf su ile karıştırılarak içerisine 200 l kültür ilave edilmiştir. *B. animalis* ssp. *lactis* BB-12, *L. acidophilus* La5, *L. johnsonii* LA1, *L. reuteri* SD2112, *L. fermentum* NCDO 1750, *L. plantarum/pentosus* AD2, *L. plantarum* NC8 ve *L. plantarum* WCFS1 kültürlerinin karışımı başlangıç kültürü olarak kullanılmış ve inokule edildikten sonra 37°C’de 18 saat boyunca fermente edilmiştir. Fermantasyon süresi sonunda probiyotik canlı sayısının ürün içerisinde 2 log artış göstererek 9 log KOB/ml olduğu saptanmıştır. Herrera-Ponce et al. (2014) yaptığı araştırmada, farklı oranlarda yulaf unu (işlemsiz/ çimlendirilmiş/ maltlaştırılmış) ve sükrozun su ile karışımını oluşturulmuş, *L. rhamnosus* HN001, *L. casei* 431 ve *L. acidophilus* La5 inokule etmiştir. İnokulasyonu yapılan yulaf karışımı 37°C’de 24 saat boyunca çalkalayıcılı inkübatörde fermente edilmiştir. Hiçbir işlem görmeyen yulaf için %5 (w/w) yulaf unu ve %3 (w/w) inokulasyon içeren

karışımında fermentasyon sonunda *L. rhamnosus* HN001 için 9,15 log KOB/ml, *L. casei* 431 için 9,05 log KOB/ml *L. acidophilus* La5 için ise 8,19 log KOB/ml sayıları gözlemlenmiştir. Yapılan araştırmada basit yulaf ortamında probiyotiklerin gelişimi zor olabildiği belirtilmiş, protein kaynağı gibi maddelerin eklenmesi ile probiyotiklerin desteklenebileceği rapor edilmiştir.

Tahılların içerisinde bulunan farklı bileşenlerin probiyotiklerin canlılığını sürdürmesi üzerinde etkileri bulunmaktadır. Arena et al. (2016) tarafından yapılan araştırmada, *L. plantarum* WCFS1, *L. acidophilus* La-5, *L. johnsonii* CECT 289, *L. paracasei* subsp. *paracasei* LC-01, *L. reuteri* CECT 925, *B. coagulans* GBI-30, 6086, *L. plantarum* B2 ve *L. fermentum* PBCC11.5'in buğday bazlı (1–3)- β -glukan ve yulaf bazlı (1–3, 1–4)- β -glukan'ın kullanabilme durumları araştırılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda kullanılan kültürlerin iki β -glukan'ı da karbon kaynağı olarak kullanamadığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda β -glukan'ın sindirim yolunda probiyotikleri koruyamadığı ve bağırsaklarda tutunma etkisini arttırmadığı gözlemlenmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada ise yulaf β -glukan'ının *Bifidobacterium* türlerinin ve *L. rhamnosus* GG'nin gelişmesini teşvik ettiği saptanmıştır (Synytsya et al., 2009). Bir diğer çalışmada ise arpa β -glukan'ının ise *L. acidophilus* La-5, *L. plantarum* WCFS1 ve *L. fermentum* CECT844 suşlarının gelişmesini artırdığı gözlenmiştir (Wang et al., 2018). Saarela et al. (2006) tarafından yapılan bir araştırmada *L. rhamnosus* LGG (E-94522 veya E522) ve *L. rhamnosus* E-97800 (E800) kullanılmıştır. Probiyotik taşıyıcısı olarak çeşitli lifler ile dondurarak kurutma sonrasında elma suyu ve kahvaltılık gevrek içerisinde kullanıldığında stabilitesini koruyabilmesi için farklı liflerin etkileri değerlendirilmiştir. Bu amaçla, suda çözünemeyen elma, yulaf, %10 ve 20 β -glukan içeren yulaf unu, kızılçik, siyah kuşüzümü ve keten; suda çözünen buğday dekstrini, polidekstroz ve inülin kullanılmıştır. Araştırmanın sonuçlarına göre; *L. rhamnosus* hücreleri, %20 β -glukanlı yulaf unu içeren elma suyu içerisine eklendiğinde 20°C'de daha iyi sonuç vermiştir. Ayrıca tüm sıcaklıklarda, %20 β -glukanlı yulaf unu içeren elma suyu örneklerinde diğer liflere kıyasla daha etkili sonuç alınmıştır. Fakat dondurarak kurutulan hücrelerin üzerinde β -glukanlı yulaf ununun hem kahvaltılık gevrek içerisinde, hem de elma suyu örneklerinde bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir. Angelov et al. (2005)

tarafından yapılan araştırmada ise tahıl bazlı bir üründen izole edilen *L. plantarum* B28, *L. casei* spp *paracasei* B29, *Candida rugosa* Y28 ve *C. lambica* Y30 kültürleri saf veya karışım halinde, yulaf unu %5,5 (w/v) ve %1,5 (w/v) süktroz olacak şekilde fermentasyon ortamına inoküle edilmiş 37°C’de 8-10 saat boyunca fermente edilmiştir. Fermentasyon sonunda probiyotik bakteri sayıları 10,6-10,9 log KOB/ml düzeyinde, 4 °C’de 24. günlük depolama sonunda ise 8 log KOB/ml düzeyinde bulunmuştur. Matijević and Vinko (2011) tarafından yapılan bir araştırmada, *L. acidophilus* La-5 ve *L. casei* Lc-1, %2,5 ve %5 (w/w) glikoz içeren yulaf bazlı süspansiyon içerisinde aktive edilmeden ilave edilmiştir. *L. casei* Lc-1 tüm örneklerde 4°C’de 28 günlük depolama süresinin sonunda 9,62 log KOB/mL düzeyinde canlılığını sürdürürken, *L. acidophilus* La-5 sayısı depolamanın 21. gününde 6 log KOB/ml’nin altına düşmüştür. Glikoz içeren örneklerde *L. acidophilus* La-5 sayıları daha yüksek bulunmuş olmasına rağmen artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. Coda et al. (2012) tarafından yapılan araştırmada pirinç unu, soya unu, yulaf unu ve arpa unu ile farklı kombinasyonlar hazırlanmış, tüm örneklerle üzüm suyu ve *L. plantarum* suşu eklendikten sonra 30°C’de 8 saat boyunca fermente edilmiştir. Fermentasyonu tamamlanan örnekler 4°C’de 30 gün depolanmıştır. Elde edilen sonuçlarda tüm örneklerin depolama süreci sonunda 8,20 – 8,40 log KOB/ml probiyotik içerdiği saptanmıştır. Üzüm suyunun içerisinde bulunan bileşiklerin tahıl unları içerisinde bulunan besin maddelerini desteklediği ve probiyotikler için daha uygun ortam oluşturduğu belirtilmiştir.

Tahıllar çeşitli besin elementleri içermesine rağmen esansiyel amino asitlerin olmayışı, tanen gibi bileşenler içermesi ve düşük protein içeriğinden dolayı süt ve süt ürünlerine kıyasla duyuşal özellikleri zayıftır (Blandino et al., 2003). Bu nedenle tahıl ürünlerinin fermente edilmesi duyuşal özelliklerini geliştirmektedir (Das et al., 2012). Yapılan bir araştırmada izoflavon eklenerek hazırlanan yulaf unlarının duyuşal özellikleri incelenmiş olup, izoflavonun örneklerin tadı üzerinde pozitif etki sağladığı gözlemlenmiştir. Bu sebeple yulaf ununun karakteristik tadının, farklı tatlar ile karıştırıldığında tüketim için daha cazip hale getireceği düşünülmektedir (Duru et al., 2019). Yapılan bir diğerk araştırmada, yulaf ile hazırlanan yemeklere aspartam eklendiğinde, tatlandırıcının

eklenmesiyle yulaf yemeğinin daha ilgi çekici olduğu gözlemlenmiştir (Mattes and Mela, 1986). Gramza-Michałowska et al. (2018) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, sarı çay (*Camellia sinensis*) ve dut (*Morus alba* L.) yaprakları ekstraktları ile tatlandırıcı olarak da *Stevia rebaudiana* bitkisinden elde edilen steviol glikozitleri kullanılarak yeni bir yulaf içeceği üretilmesi araştırılmıştır. Yapılan bu araştırmanın sonunda içerisine bitki ekstraktı ve tatlandırıcı eklenmiş ürünlerin tüketiciler tarafından daha fazla tercih edildiği duyusal deneylerle kanıtlanmıştır.

2.3.4 Probiyotiklerin gelişimini etkileyen faktörler

Meyve suları probiyotikler için iyi bir besin kaynağı olsa da büyük üretimlerde probiyotiklerin stabilitesini korumak zor olmaktadır. Yapılan çalışmalarda meyve sularının içerdiği yüksek karbonhidrat, vitaminler ve diyet lifleri ile probiyotikleri desteklerken aynı zamanda sağlıklı gıdalar olduğu düşünülmektedir (Patel, 2017). Ayrıca, Dünya nüfusunun yaklaşık %70'inin laktoz intoleransı olması nedeniyle, süt içermeyen probiyotik ürünlere karşı olan ilgi artmaktadır (Perricone et al., 2015). Fakat, probiyotiklerin bitkisel gıda matrisine tutunabilmesi, süt ürünleri içerisinde tutunabilmesine kıyasla daha zordur. Meyve suyunun yüksek asitliği gibi negatif koşullarından probiyotiklerin korunması gerekmektedir (Pereira and Rodrigues, 2018). Olivares et al. (2019) tarafından yapılan çalışmada *L. casei* DSM 20011 probiyotik suşu ananas, ahududu ve portakal suyuna eklenmiştir. Hazırlanan örnekler 4°C'de 28 gün boyunca depolanmıştır. Depolama süresince ananas suyu örneklerinde probiyotik sayısı 7 log KOB/ml civarında kalarak ürün probiyotik özelliğini korumuştur. Portakal suyu örneklerinde 14. günden sonra, ahududu örneklerinde ise depolamanın ilk haftasında probiyotik sayısı 6 log KOB/ml'nin altına düşmüş ve probiyotik özelliğini kaybetmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda probiyotiklerin canlılığını etkileyen farklı faktörler Tablo 2.15'te gruplandırılmıştır.

Tablo 2.15. Probiyotik suşlarının canlılığına etki eden faktörler (Mattila-Sandholm et al., 2002; Karimi et al., 2011; Tripathi and Giri, 2014; Călinoiu et al., 2016)

Faktör Grubu	Faktörler
Gıdanın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	pH
	Titre edilebilir asitlik
	Su aktivitesi
	Redoks potansiyeli
	Gıdanın içeriği ve katkı maddesi varlığı
Gıdalara Uygulanan İşlemler	Diğer mikroorganizmaların varlığı
	Isıl işlemler, dondurma ve çözme işlemi
	İnkübasyon sıcaklığı
	Soğutma hızı
	Depolama
Mikroorganizmaların Özellikleri	Paketleme materyali
	Üretim ölççeği
	İnokulasyon seviyesi
	Probiyotik suş

Gıdaların fiziksel ve kimyasal özellikleri: Gıdaların fiziksel ve kimyasal özellikleri probiyotiklerin gıdaların içerisinde üreyebilmesi ve depolama süresince istenen seviyelerde canlılığını sürdürebilmesini etkilemektedir. Bu özelliklerden gıdanın pH ve titrasyon asitliği önemli faktörler arasındadır. Probiyotiklerin farklı metabolizmaları (Embden-Meyerhof, Leloir gibi) sonucu oluşan çeşitli metabolitler nedeniyle probiyotiklerin bulunduğu ortamın pH değeri düşmektedir. pH seviyesinin düşmesi probiyotikler için sınırlayıcı bir faktör olduğu belirtilmiştir (Espírito Santo et al., 2011; Tripathi and Giri, 2014; Bezerra et al., 2017; Gradhinta et al., 2020). Gomes and Malcata (1999) tarafından yayımlanan derleme makalesinde *L. acidophilus*'un asit toleransı %0,3-1,9 titre edilebilir asitlik ve 5,5-6,0 pH aralığında optimum seviyede olduğu belirtilmiştir.

Probiyotiklerin florası gastrointestinal sistem olduğu için, probiyotik içeren gıdaların su aktivitesinin fermentasyon ve depolama süresi boyunca gastrointestinal sisteme uygun olması önemlidir (Heller, 2001; Önnby et al., 2013).

Probiyotik ürünlerin fermentasyon ve depolama süresi boyunca oksijenle temas etmesi probiyotik sayılarında azalmalara neden olmaktadır. Bu nedenle, probiyotik ürünlerde askorbik asit eklenmesi gibi yöntemlerle oksijenin uzaklaştırılması gerekmektedir (Ding and Shah, 2008; Călinoiu et al., 2016). Gıdalarda bulunan oksijenin probiyotiklerin hücre zarında bulunan yağ dokusunda peroksidasyona sebep olmasından dolayı probiyotiklere zarar verebilmektedir (Tripathi and Giri, 2014).

Gıdaların içeriği ve gıdalarda bulunan farklı katkı maddeleri probiyotiklerin gelişimi üzerinde olumlu, olumsuz veya nötr etki gösterebilmektedir (Mattila-Sandholm et al., 2002; Tripathi and Giri, 2014). Gıdalara eklenen sodyum nitrat probiyotikler üzerinde inhibisyon etkisi gösterirken, kalsiyum karbonat ortamın pH değerini dengeleyerek hem probiyotikleri destekleyici etki hem de veganlara kalsiyum desteği sağlayabilmektedir (Craig, 2009; Zhao et al., 2009; Kołozyn-Krajewskaa and Dolatowski, 2012; Gradhinta et al., 2020). Çoğu *L. acidophilus* suşunun amigdalın, sellobiyoz, fruktoz, galaktoz, glukoz, laktoz, maltoz, mannoz, salisin, sükroz, trehaloz ve esculini sindirebildiği belirtilmiştir (Gomes and Malcata, 1999). Laktozun sütte neredeyse bulunan tek şeker olmasına rağmen, *L. acidophilus*'un β -galaktosidaz ve β -fruktofuranosidaz faaliyetlerindeki farklılıklar nedeniyle, sükrozu laktozdan daha iyi sindirdiği belirtilmiştir. Ayrıca, sükrozun hem glikoz hem de fruktoz kısımları *L. acidophilus* tarafından kullanılabilir, ama laktozun galaktoz kısmının metabolize edilmesi önemli sayılabilecek bir düzeyde olmadığı belirtilmiştir.

Probiyotik gıdaların üretimi sırasında gıdanın doğal mikroflorasında bulunan mikroorganizmalar da probiyotiklerin gelişimini etkileyen faktörler arasında yer almaktadır. Meyve suları besin içeriği açısından zengin olmasına rağmen herhangi bir starter kültüre ihtiyaç duymadan probiyotik ürün

oluşturulabilmekte ve böylelikle besin içeriği yarışı engellenmektedir (Kumar et al., 2015). Ayrıca starter kültür kullanılmaması starter kültürlerin oluşturacağı farklı metabolitlerin üretiminin probiyotikleri inhibe etme olasılığını ortadan kaldırmaktadır (Cotter et al., 2005; Karimi et al., 2011).

Gıdalara Uygulanan İşlemler: Probiyotik ürünler üretilirken sıcaklıkların yüksek derecelere çıkarılması probiyotik sayısında kayıplara yol açmaktadır. Bu sebeple probiyotiklerin ısı işlem sonrasında eklenmesi veya olabildiğince az ısıya maruz bırakılması gerekmektedir (Lee and Salminen, 2009). Yapılan araştırmalarda işlem öncesi ısı şokunun probiyotiklerin canlılığını daha az etkilediği görülmüştür (Teixeira et al., 1994).

Probiyotikler buzdolabı sıcaklığında veya donmuş olarak daha uzun süre canlı kalmasına rağmen dondurma hızının probiyotikler üzerinde olumsuz etkisi olabilmektedir. Probiyotik ürünler dondurulurken hızlı dondurma işlemleri büyük kristallere sebep olmakta ve hücrelerin hücre zarını kırabilmektedir. Bu sebeple dondurma işlemleri yapılırken olabildiğince hızlı dondurma işlemi tercih edilmelidir (Tripathi and Giri, 2014; Béal and Fonseca, 2015; Călinoiu et al., 2016).

Probiyotik gıdaların içerisinde bulunan probiyotik sayısının insan sağlığına faydalı olabilmesi için 6-7 log KOB/ml olması gerekmektedir (FAO/WHO, 2002). Probiyotikler oda sıcaklığına kıyasla buzdolabı sıcaklığında daha iyi stabil kalmaktadır. Ayrıca probiyotik gıdaların düşük pH seviyesi, asidik içeriği gibi farklı stres koşullarına da dayanıklı olması gerekmektedir (Chou and Hou, 2000; Damin et al., 2008; Rathore et al., 2012; Pakbin et al., 2014; Tripathi and Giri, 2014; Dimitrellou et al., 2016)

Probiyotikler mikroaerofilik ve anaerobik laktik asit bakterileridir. Ortamda oksijen bulunması probiyotikler üzerinde toksik etki yaratmakta ve sayılarında azalmaya neden olmaktadır (Talwalkar and Kailasapathy, 2003; Talwalkar and Kailasapathy, 2004). Probiyotik gıdalar oluşturulurken oksijen geçirgenliği az

olan paketleme materyalleri seçilmelidir (Tripathi and Giri, 2014; Călinoiu et al., 2016).

Kullanılacak olan probiyotik kültürlerin, büyük ölçekli probiyotik gıda üretimine uygun olması ve canlılığını üretim ve depolama boyunca devam ettirmelidir (Tripathi and Giri, 2014).

Mikroorganizmaların Özellikleri: Probiyotiklerin başlangıçtaki inokulasyon seviyelerinin yüksek olması probiyotiklerin sayısında artış sağlamıştır fakat bu artışın çok önemli olmadığı belirtilmiştir (Angelov et al., 2006; Sharanagouda et al., 2019).

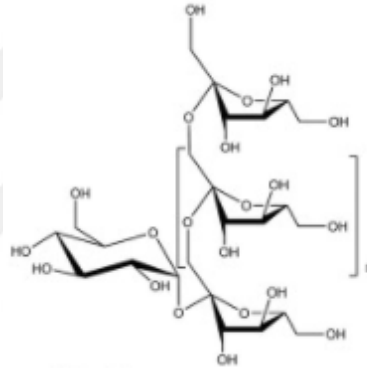
Probiyotik gıdalar oluşturulurken eklenecek olan probiyotik suşun ürünün asitliğine, sıcaklığına ve pH seviyesi gibi parametrelerine uyumlu olmalı, canlılığını depolama süresi boyunca devam ettirmeli ve gıdanın tekstürünü istenen şekilde oluşturması gerekmektedir (Stanton et al., 2001; Kumar et al., 2015; Shori, 2016; Panghal et al., 2018; Guimarães et al., 2020). Düşük pH seviyesine sahip gıdalarda *Lactobacillus* türlerinin *Bifidobacterium* türlerine göre daha stabil olduğu belirtilmiştir (Tripathi and Giri, 2014).

2.3.4.1 Probiyotiklerin gelişimini desteklemek için prebiyotik kullanımı

Prebiyotikler, seçici olarak probiyotik bakteriler tarafından sindirilen ve fermente olduğunda kolonda sağlık üzerinde olumlu etkiler gösteren galakto-, frukto- ve ksilo-oligosakkaritlerdir (Ooi et al., 2019). Suda çözünebilen ve bağırsaklarda probiyotikler tarafından sindirilebilen diyet lifleri ve suda çözünemeyen fakat fermente edilebilir lifler prebiyotikler olarak sınıflandırılmaktadır (Singla and Chakkaravarthi, 2017). Prebiyotiklerin ince bağırsaklarda *Lactobacillus* ve kalın bağırsaklarda *Bifidobacterium* türleri tarafından sindiriliyor olması, bağırsak içerisinde baskın floranın oluşmasını sağlamaktadır. Bu nedenle prebiyotikler, sindirim sistemini düzenlemeye yardımcı olmaktadır (Modzelewska-Kapituła and Kłębukowska, 2009). Genel olarak kullanılan prebiyotik türleri frukto-oligosakkaritler (FOS), galakto-

oligosakkaritler (GOS), inulin, izomalto-oligosakkarit (IMO), beta-glukan ve pisilyum kabuğudur (Singla and Chakkaravarthi, 2017).

Prebiyotikler, Kudüs enginarı, hindiba kökü, soğan, buğday, arpa, çavdar, muz ve sarımsak gibi bitkilerden doğal yollarla veya endüstriyel olarak elde edilebilir. Prebiyotiklerden inülin, fruktoz ünitelerinden oluşan bir karbonhidrat çeşididir (Modzelewska-Kapituła and Kłębukowska, 2009; Borneo and León, 2012; Singla and Chakkaravarthi, 2017; Davani-Davari et al., 2019). İnülin, terminal glikoza glikozit bağlarıyla bağlı fruktoz karışımlarından oluşur ve bu sebeple sindirim enzimleri tarafından parçalanamamaktadır (Borneo and León, 2012). İnülinin kimyasal yapısı Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5. İnülinin açık moleküler yapısı (Mensink et al., 2015)

Gıdalara eklenen inülin benzeri prebiyotikler katkı maddesi olarak sınıflandırılabilir ve bu katkı maddeleri fruktan olarak adlandırılır. İnülin tipi fruktanlar gıdalar içerisinde şeker veya yağ ile ikame edilebilmektedir. Fermente süt ürünlerinde viskoziteyi arttırıcı; yoğurt, çikolata, peynir gibi ürünlerde ekşi tadı indirgeyerek, tuzlu ve daha tatlı duyuşsal özellik göstermesinden dolayı tat düzenleyici olarak kullanılabilmektedir (Roberfroid, 2000; Gibson et al., 2004; Ray and Bhunia, 2007; Roberfroid, 2007; Allgeyer et al., 2010; Charalampopoulos and Rastall, 2011; Rosa et al., 2021).

Prebiyotikler, özellikle probiyotiklerin sindirebildiği ve vücuda alındığında bağırsak florasının oluşmasına yardımcı olan besin maddeleridir. Yapılan

çalışmalarda tahıl bazlı probiyotik ürünler farklı prebiyotikler eklenmiş ve probiyotik sayılarının arttığı görülmüştür. Semjonovs et al. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada fruktooligosakkarit kaynağı olarak Kudüs enginarının (*Helianthus tuberosus*) simbiyotik özelliğı incelenmiş ve yulaf bazlı bir örnek ile süt bazlı bir örnek kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Kültür olarak ise *B. lactis* BB12, *L. acidophilus* La-5, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* LB12 ve *S. thermophilus* ST gruplandırılarak kullanılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre %2 yerelması konsantresi eklenen örneklerin yulaf bazlı kontrol örneklerine göre daha iyi simbiyotik etki gösterdiği görülmüştür. 37°C’de 8 saatlik fermentasyon sonucunda yulaf kontrol örneklerinin kültür sayımlarının 11,56-12,59 log KOB/g arasında değıştiğı; %2 Kudüs enginarı konsantresi eklenen örneklerin ise 12,76-13,68 log KOB/g mikroorganizma içerdiği saptanmıştır. Yapılan araştırmada Kudüs enginarı eklenen örneklerde yoğurt kültürlerinin sayısını arttırdığı gibi, probiyotik sayılarını da arttırdığı belirtilmiştir. Wang et al. (2018) tarafından yapılan bir araştırmada yulaf unu (%10), şeker (%4), inülin (%1) ve %0,003 oranında probiyotik *L. plantarum* karışımını baz olarak kullanılmasıyla simbiyotik bir ürün geliştirilmesi amaçlanmıştır. Fermentasyon koşulları 30°C’de 12 saat olarak ayarlanmıştır. Fermentasyon tamamlandıktan sonra içerisine pektin ve λ-karragenan stabilizatörleri, C vitamini ve sitrik asit eklenerek 7 hafta depolanmıştır. Depolama süreci boyunca pH değeri ortalama 3,60 düzeyinde, probiyotik sayısı ise 10⁷ KOB/ml olarak sabit kalmıştır.

Prebiyotikler vücuda alındığında probiyotikler tarafından besin kaynağı olarak kullanılmasına rağmen, simbiyotik gıdalara eklenen prebiyotiklerin bazı araştırmalarda probiyotik sayısını önemli derecede arttırmadığı da gözlemlenmiştir. Pimentel et al. (2015) tarafından yapılan araştırmada *L. paracasei* ssp. *paracasei* LC-01 kullanılarak probiyotik elma suyu üretilmiştir. Elde edilen örneklerin bir grubuna prebiyotik desteğı olarak oligofruktoz ilave edilmiştir. Prebiyotik içeren örneklerde probiyotik sayısı 4°C’de 28 günlük depolama süresi sonunda 6 log KOB/ml seviyesinin üstünde kalırken, prebiyotik içermeyen örneklerde probiyotik sayısı 6 log KOB/ml’nin altına düştüğü için oluşturulan ürün depolama süresinin sonunda probiyotik özelliğini kaybetmiştir. Nguyen et al. (2019) tarafından yapılan araştırmada, *B. lactis* Bb-12, *L. plantarum*

299V ve *L. acidophilus* La-5 içeren probiyotik ananas suyu üretilmiştir. Ayrıca örneklerin 8 saat ve 24 saat fermente edilen grubuna prebiyotik desteği sağlaması amacıyla raftilin eklenmiştir. Hazırlanan örnekler 37°C’de 24 saat (bir grup örnek 8 saat) inkübe edilmiş ve daha sonra 4°C’de 2 ay boyunca depolanmıştır. Fermantasyon sonunda *L. plantarum* 299V ve *L. acidophilus* La-5 suşlarının sayısı 9 log KOB/ml seviyesindeyken *B. lactis* Bb-12 suşunun canlılığının 8 log KOB/ml seviyesinde olduğu gözlemlenmiştir. Depolama süresinin sonunda örneklerde probiyotik sayısı *L. plantarum* 299V ve *L. acidophilus* La-5 için 9-10 log KOB/ml arasında olduğu, *B. lactis* Bb-12 suşunun sayısının ise 8-9 log KOB/ml seviyesinde olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre ürünlerin içerisine prebiyotik ilavesinin probiyotik canlılığına etki etmediği belirtilmiştir. Vasconcelos et al. (2014) tarafından yapılan çalışmada ise, *L. acidophilus* La-5 ve *B. lactis* spp. *animalis* Bb-12 kültürleri ile acai (*Euterpe oleracea*, Mart., Arecaceae) içeren dondurulmuş probiyotik tatlı üretimi araştırılmıştır. Prebiyotik desteği olarak %5,85 (w/w) olacak şekilde inülin kullanılmıştır. Depolama süresince (-18°C) içerisinde inülin bulunan örneklerde bulunan probiyotik bakteri sayısı, inülin içermeyen ürünlerden daha yüksek sayıda bulunmuştur. Depolama süresince *L. acidophilus* La-5 sayısı inülin içeren ve içermeyen örnekler için 7 KOB/g’ın üzerinde kalmış, fakat *B. lactis* spp. *animalis* Bb-12 için inülin içeren örnekler 6 KOB/g’ın üzerinde kalırken, inülin içermeyen örneklerin 28. günden sonra 6 KOB/g’ın altına düştüğü gözlemlenmiştir. Bedani et al. (2013) tarafından yapılan çalışmada ise ABT-4 (*L. acidophilus* La-5, *B. lactis* spp. *animalis* Bb-12 ve *S. thermophilus*) kullanılarak üretilen soya ürününe inülin ve soya sütü posası (okara) un haline getirerek eklenmiştir. Örnekler 37°C’de pH’ları 5,0’a düşene kadar fermente edilmiş ve fermantasyon sonunda 4°C’ye soğutulmuş ve 28 gün boyunca depolama sürecine tabi tutulmuştur. Yapılan araştırmanın sonucunda *L. acidophilus* La-5 ve *B. lactis* spp. *animalis* Bb-12 için depolama sürecinin 1. gününde tüm örneklerin 8 log KOB/g probiyotik bakteri içerdiği saptanmıştır. Depolamanın 28. gününde her iki probiyotik için de 8 log KOB/g kültür içerdiği tespit edilmiştir. Yapılan analizde depolama süresi boyunca inülin veya okara ununun probiyotikler üzerinde canlılığını etkilemediği ve koruyucu etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Silva and Ferrari (2016) tarafından yapılan bir çalışmada inülin içeren (%10) ve içermeyen üzüm sularının (*Vitis labrusca* L. cv

Bordo) *L. paracasei* kullanılarak fermente edilmesi ile elde edilen probiyotik ürünlerde probiyotik sayıları başlangıçta 9,0 log KOB/ml olarak tespit edilmiştir. Depolama süresinin sonunda (4°C’de 28 gün), inülin içeren örneklerde probiyotik sayıları 6,1 log KOB/ml, inülin içermeyen örneklerde ise sayının 5,9 log KOB/ml olduğu kaydedilmiştir. Depolama süreci boyunca pH seviyeleri 3,22-3,33 seviyesinde kalmıştır. Yapılan araştırmada, eklenen inülinin probiyotik mikroorganizmaların canlı kalmasını arttırmasına rağmen, bu artışın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı belirtilmiştir. Allgeyer et al. (2010) tarafından yapılan araştırmada *L. acidophilus* La-5 ve *B. lactis* spp. animalis BB-12’nin 1:1 karışımı ile yoğurt içeceği hazırlanmış ve 42°C’de 5-6 saat süresince pH’ları 4,3-4,4’e düşene kadar fermentasyon işlemi uygulanmıştır. Prebiyotik kaynağı olarak ise polidekstroz (%90 lif), çözünebilir mısır lifi (%66 lif) ve inülin (%89 lif) kullanılmıştır. Depolamanın 1. gününde tüm örneklerde probiyotik sayısı 8 log KOB/ml, 20. gününde ise 6 log KOB/ml olarak hesaplanmıştır. Depolamanın 30. gününde ise polidekstroz içeren örneklerde 6 log KOB/ml kültür sayısı elde edilmiş, çözünebilir mısır lifi ve inülin içeren örneklerinde ise sayıların 5 log KOB/ml düzeyine düştüğü tespit edilmiştir. Çalışmada, *L. acidophilus* La-5 suşunun inülini kullanmadığı, prebiyotiklerin kullanımında kültürler arasında farklar olduğu rapor edilmiştir.

Thongaram et al. (2017) tarafından yapılan bir araştırmada *L. acidophilus* La-5 dahil 12 *Lactobacillus* ve 12 adet *Bifidobacterium* probiyotik suşunun anne sütü oligosakkaritleri ile etkileşimi araştırılmıştır. Araştırmanın sonuçlarına göre *L. acidophilus* La-5 monomeri glikoz, galaktoz ve N-asetilglukozamin olan Lakto-N-neotetroz’un incelenen diğer probiyotik suşlara göre daha fazla tüketildiği, ancak tamamen tüketilemediği saptanmıştır. Bunun sonucunda ek olarak galaktozu galaktooligosakkaritlerden ayıran β -galaktozidaz’ın, hücre içi ve hücre dışı aktiviteleri incelenmiş olup, ilk 72 saat aktivite olmamasına rağmen, 96 saat sonunda hücre dışı etkinliğin maksimum seviyede olduğu gözlemlenmiştir. Bu gecikmenin ise hücre içi salınımdan kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan araştırmada farklı probiyotiklerin farklı prebiyotikleri kullandığı ve simbiyotik kombinasyonlar oluşturduğu belirtilmiştir.

2.3.4.2 Probiyotiklerin gelişimini desteklemek için kalsiyum karbonat kullanımı

Laktik asit bakterileri, Embden-Meyerhof, Tagatöz-6-Fosfat veya Leloir gibi farklı metabolizmalar sonucu oluşturdukları organik asitlere göre heterofermentatif veya homofermentatif olarak gruplandırılmaktadır. Gıda matrisinde bulunan bileşenlerin indirgenmesi sonucu oluşan laktik asit vb. diğer asitler ortamın pH'ını düşürmektedir. Düşük pH değerleri probiyotik bakterilerin gelişimini engelleyici bir faktördür (Espírito Santo et al., 2011; Tripathi and Giri, 2014; Bezerra et al., 2017; Amelia et al., 2020). Yapılan araştırmalarda kalsiyum karbonatın gıdanın pH seviyesini arttırdığı ve stabilizasyonu sağladığı, bu nedenlerle fermentasyon sonrası oluşan asit seviyesini düşürdüğü gözlemlenmiştir (Coskun and Senoglu, 2011; Darwin et al., 2019). Ayrıca gıdalara kalsiyum karbonat eklenmesiyle, ürünün içerisindeki kalsiyum seviyesinin yükseltilmesi ile vegan ürünlerin kalsiyum eksikliğinin karşılanması aynı zamanda probiyotiklerin canlılığını desteklenmesi sağlanmaktadır (Craig, 2009; Zhao et al., 2009; Gradhinta et al., 2020).

Kalsiyum karbonat, bazı kabuklu canlılarda iskelet yapısında bulunurken, bitkilerde kalsiyum deposu olarak bulunabilir. Kalsiyum karbonat kalsit, aragonit ve vaterit olarak üç farklı susuz kristal olarak bulunabilir. Kalsit yüksek sıcaklık ve basınçta en stabil kalabilen kristaldir (Brecevic and Nielsen, 1989; Meldrum, 2003). Kalsiyum karbonat, su ortamında Ca^{+2} ve CO_3^{-2} olarak iyonlaşmaktadır (Ogino et al., 1987).

Kalsiyumun, sinir ve kas sistemlerinin çalışması, kan pıhtılaşmasını desteklemesi ve iskelet sistemine katılarak yapısal destek sağlaması gibi sağlığa yararlı birçok etkisi vardır. İnsan vücudunda en yoğun bulunan mineral olmasının yanında eksikliği ile osteoporoz gibi birçok kemik hastalığı gözlemlenebilmektedir (Nieto et al., 2021). Çeşitli kemik hastalıklarının önlenmesi için, yaygın olarak kalsiyum karbonat veya kalsiyum sitrat şeklinde kalsiyum takviyeleri yapılmaktadır (Trailokya et al., 2017).

Codex Alimentarius ve Türk Gıda Kodeksi'nde E170 koduyla belirtilen ve belli bir tüketim sınırı bulunmayan kalsiyum karbonat, asitlik düzenleyici, stabilizatör gibi çeşitli alanlarda kullanım amacının yanında gıdalar içerisinde de kullanılabilmektedir (FAO/WHO, CX/FAC, 2019). Hayvansal gıdalar tüketemeyen veganlar için üretilen gıdalar kalsiyum, vitaminler ve yağ asitleriyle zenginleştirilerek, veganların da yeterli mikronütrientleri alması sağlanmaktadır (Craig, 2009; EFSA, 2011). Ayrıca kalsiyum karbonat eklenen gıdalarda pH seviyesinin normalden daha yüksek olduğu ve stabil kaldığı gözlemlenmiş, fermentasyon sonucu oluşan titrasyon asitliği seviyesinin ise normal örneklerle göre daha az olduğu saptanmıştır (Coskun and Senoglu, 2011; Darwin et al., 2019). Kalsiyum karbonat, en yaygın olarak kullanılan kalsiyum tuzudur ve asidik ortamlarda çözünürlüğü iyidir (Szeleszczuk et al., 2015).

Salman et al. (2012) tarafından yapılan çalışmada *L. acidophilus*, *B. bifidum* ve *S. thermophilus* kültürleri ile probiyotik yoğurt üretimi yapılmıştır. Steril edilen tavuk yumurtasından %0,5, 0,7, 0,9 ve 1,1 (w/w) değerlerinde yumurta kabuğu eklenmiş ve örnekler tamamen pıhtılaşmaya kadar 42°C'de fermente edilmiştir. Hazırlanan örneklerin 6±2°C'de 9 günlük depolama süresi boyunca probiyotik özelliğini koruduğu gözlemlenmiştir. Çalışma içerisinde eklenen yumurta kabuğu oranı arttıkça *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısında artış olduğu gözlemlenmiştir. Zhao et al. (2009) tarafından yapılan bir araştırmada, yağsız süt içerisine *L. bulgaricus* ve *L. helveticus* kültürleri ilave edildikten sonra, 10 g/L olacak şekilde fermentasyon başında ve fermentasyonun 6. saatinde ayrı ayrı sodyum sitrat, kalsiyum karbonat ve sodyum karbonat eklenmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Ekleme yapılan örneklerde fermentasyon sonunda probiyotik sayılarında %150-220 arasında artış gözlemlenmiştir.

Pejin et al. (2015) tarafından yapılan bir araştırmada, bira fabrikası atığı olan tahılları kullanılarak elde edilen hidrolizata %2 (w/v) kalsiyum karbonat ilavesinin *L. fermentum* veya *L. rhamnosus* kültürlerinin laktik asit üretimine etkisi incelenmiştir. Fermentasyon boyunca (72 saat) elde edilen sonuçlarda, kalsiyum karbonat eklenmeyen örneklerde *L. rhamnosus* sayısında %37 azalma, kalsiyum karbonat eklenen örneklerde ise %25 artış gözlemlenmiştir.

Fermantasyon sonunda ise, kalsiyum karbonat eklenen ürünlerdeki *L. rhamnosus* sayısının kalsiyum karbonat eklenmeyen ürünlerden %105 daha fazla olduğu saptanmıştır. Fermantasyon sonunda *L. fermentum* sayısının ise kalsiyum karbonat eklenen örneklerde, kalsiyum karbonat eklenmeyen ürünlerden %3 daha fazla olduğu belirlenmiştir.

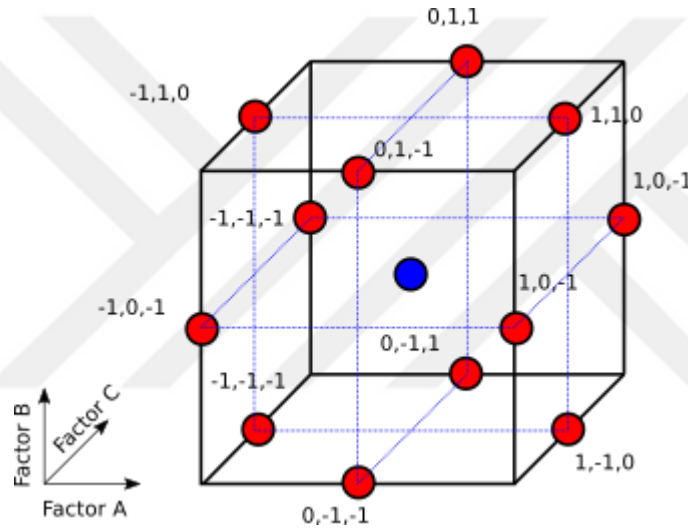
Kalsiyum karbonat, probiyotikler için kalsiyum desteği ve pH stabilizasyonunu sağlaması gibi özelliklerinin yanında, probiyotik mikroorganizmalar için mikroenkapsülasyon malzemesi olarak da kullanılabilir. Enkapsülasyon malzemesi olarak kalsiyum karbonat ve aljinatın birlikte kullanılması ile oluşturulan enkapsüle edilmiş probiyotikleri (*B. animalis* subsp. *lactis* BB-12) korumakta çok başarılı olup, 25°C'de 60 gün boyunca probiyotik bakterilerin canlı kalmasını sağlamıştır (Rodrigues et al., 2020). González-Cuello et al. (2017) tarafından yapılan araştırmada, 30 mM Ca^{+2} kullanılarak enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* için sindirim sistemi simülasyonu uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlarda, mide sıvısında (pH 3) 1 saat bekletildiğinde probiyotik canlı sayısının 11,15 – 11,20 log KOB/ml'den 10,78 log KOB/ml'ye düştüğü gözlemlenmiştir. Daha sonra pH 7 seviyesinde bağırsak simülasyonunda 4 saat bekletildiğinde ise canlı mikroorganizma sayısında 0,45 log KOB/ml azalma gözlemlenmiş olup, probiyotiklerin insan sağlığına yarar sağlayabilecek seviyede (8-9 log KOB/ml) canlı kaldığı gözlemlenmiştir.

2.4 Yanıt Yüzey Metodolojisi ile Optimizasyon

Yanıt Yüzey Metodolojisi (Response Surface Methodology), Box ve çalışma arkadaşlarının 1950 yıllarında geliştirdiği, çoklu parametreleri ve bu parametrelerin birbiriyle bağlantısını kullanarak deney sayısını önemli ölçüde azaltmayı hedefleyen bir modellemedir (Yolmeh and Jafari, 2017). Yanıt Yüzey Metodolojisi yeni ürün tasarlamak, geliştirmek veya daha önceden üretilmiş ürünler için yeni formülasyonlar üretmek için önemli bir uygulamadır. Bu uygulamaların içerisinde 3-21 arası faktör ile çalışılabilen Box-Behnken Dizaynı en yaygın olarak kullanılan dizayn modelidir (Bazaria and Kumar, 2018). Yanıt Yüzey Metodolojisi, istenilen yanıtı iyileştirmek, geliştirmek ve optimize etmek

için kullanılan matematiksel ve istatistiksel tekniklerin bütünüdür (Baş and Boyacı, 2007).

Box-Behnken Metodu, her faktörün 3 noktası (-1, 0, +1) göz önünde bulundurularak uygulanır ve 3^k faktöriyel dizaynından faktöriyel kombinasyonların bir alt grubunu içerir (Yolmeh and Jafari, 2017). Bu sebeple Box-Behnken metodunun tahmin değerleri faktör uzayının merkezinde olması nedeniyle daha hassastır (Bazaria and Kumar, 2018). Box-Behnken Metodu'nun dizayn şeması Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Box-Behnken Metodu faktör dizayn noktaları

Box-Behnken yöntemi probiyotik gıdalar da dahil olmak üzere birçok gıdanın üretilmesinde veya var olan gıdaların geliştirilmesinde kullanılmaktadır (Gupta and Bajaj, 2017). Hassani et al. (2015) tarafından yapılan bir araştırmada sorgum şırası hazırlanmış ve örneklerle *L. acidophilus* La-5 ilave edilmiştir. Yapılan deney düzeneğinde 28, 37, 46°C sıcaklıkları, 0,2, 0,5 ve 0,8 OD₆₀₀ inokulasyon düzeyi ve başlangıç pH'ı olarak 5, 5,5 ve 6 kriter olarak alınarak optimize bir probiyotik ürün geliştirilmeye çalışılmıştır. Optimizasyon sonuçlarına göre 33°C sıcaklık, 0,8 OD₆₀₀ inokulasyon dozu ve 5,3 başlangıç pH'ı olan örnek grubu optimize koşul olarak seçilmiştir. 18 saat süren fermentasyon işleminin

sonucunda optimum parametreler ile üretilen ürün içerisindeki *L. acidophilus* La-5 değeri 8,0 log KOB/ml, pH 3,7, laktik asit miktarı 3,2 g/L ve toplam şeker içeriği ise 52,7 g/L olarak tahmin edilmiştir. Elde edilen optimum koşullarla validasyon deneyleri yapılmış ve mikroorganizma sayısı 7,9 log KOB/ml, pH 3,65, laktik asit 3,07 g/L, toplam şeker 53,1 g/L bulunmuştur. Optimum olarak oluşturulan teorik sonuçlar ile validasyon deneylerinin sonuçlarının tutarlı olmasından dolayı modellemeler ve Yanıt Yüzey metodunun optimum fermentasyon koşullarını tahmin etmek için uygun bir yöntem olduğu belirtilmiştir. Gharbi Yahyaoui et al. (2017) tarafından yapılan bir araştırmada *L. rhamnosus* LGG suşu kahvaltılık gevrek olarak tüketilen “Bsissa” içerisine eklenmiş ve probiyotik bir kahvaltılık gevrek araştırılması yapılmıştır. Bu araştırma için buğday, nohut, keçiyoynuzu, çemenotu tohumu ve menzengüşün kurutulmuş yaprakları ile hazırlanan Brissa unu kullanılmıştır. Deney içerisinde başlangıç mikroorganizma konsantrasyonu 7 log KOB/ml olacak şekilde ayarlanmış ve Brissa unu karışımına ilave edilmiştir. Optimizasyon faktörleri olarak sükroz konsantrasyonu, fermentasyon süresi ve sıvı-katı oranları ayarlanmış ve cevaplar kısmında ise *L. rhamnosus* LGG sayısı, serbest nitrojen içeriği ve toplam asitlik kontrol edilmiştir. Fermentasyon sonunda 4,3 olan pH ve 9,39 log KOB/g olan mikroorganizma sayısı, 4°C’de 21 günlük depolama sonunda pH 3,4 ve 8,23 log KOB/g’a düşmüştür. Depolama süresi sonunda probiyotikler istenen seviyelerde canlılığını korumaya devam ettiği için Brissa’nın probiyotik bir ürün olarak umut vaat ettiği düşünülmektedir. Bernat et al. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, *L. reuteri* ve *S. thermophilus* içeren probiyotik yulaf sütü içeceği üretiminin optimizasyonu yapılmıştır. Denemede %8 (w/v) oranına sahip yulaf sütü hazırlanmış ve içerisine farklı oranlarda glikoz, fruktoz, inülin ve kültürler eklenmiştir. Hazırlanan ürünler 40°C’de pH değerleri 4,4-4,6 seviyesine düşene kadar bekletilmiş ve pH belirtilen seviyeye geldiğinde fermentasyon sonlandırılmıştır. Fermentasyon prosesinin sonunda sırasıyla 8.8 log KOB/ml ve 8,01 log KOB/ml probiyotik bakteri içerdiği tespit edilmiştir. 4°C’de 28 günlük depolama sonucunda ise probiyotik bakterilerin sırasıyla 7,43 log KOB/ml ve 7,63 log KOB/ml sayılarında canlı kaldığı gözlemlenmiştir. Bansal et al. (2016) tarafından yapılan araştırmada fıstık kullanarak yoğurt benzeri probiyotik ürün geliştirilmesi amaçlanmıştır. Deney için laboratuvar ortamında

hazırlanan fıstık sütüne *L. fermentum* BBE4 ve *L. fermentum* BBE5 suşları eklenmiş ve farklı inokülasyon miktarı, fermantasyon sıcaklığı ve fermantasyon süresince optimizasyon denemeleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarda inokulum miktarının %1,9, fermantasyon sıcaklığının 38°C ve fermantasyon süresinin ise 12 saat olduğu optimum koşul olarak belirlenmiştir. Elde edilen optimum koşullarda deney yapıldığında 7,41 log KOB/ml probiyotik sayısı beklenmiştir ve validasyon deneyleri sonucunda 7,5 log KOB/ml olduğu belirlenmiştir. Böylelikle yapılan optimizasyon çalışmalarının tutarlılığı da doğrulanmış olmaktadır. Pandey and Mishra (2015) tarafından yapılan çalışmada simbiyotik soya yoğurdu üretmeye çalışılmıştır. Üründe probiyotik mikroorganizma olarak *L. acidophilus* NCDC11 ve *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* NCDC118 kullanılmıştır. Elde edilen örnekler farklı inokülasyon miktarı, fermantasyon sıcaklığı ve farklı miktarlarda fruktooligosakkarit eklenmesiyle optimizasyon denemeleri yapılmıştır. Yapılan deneme sonuçlarında simbiyotik soya yoğurdunun fruktooligosakkarit miktarının optimum değerinin %8,1 (w/v), eklenecek inokülasyon miktarının (1:1) %3,6 (v/v) ve fermantasyon sıcaklığı ile süresinin ise 41°C’de 5,25 saat olması gerektiği belirlenmiştir. Validasyon denemeleri boyunca fermantasyon sonunda örneklerde bulunan probiyotik sayısının 11 log KOB/ml’nin üzerinde olduğu gözlemlenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Probiyotik kültürler

Bu proje kapsamında probiyotik özellikteki *Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Lactobacillus rhamnosus* LGG kültürleri kullanılmış olup, kültürler liyofilize olarak Chr. Hansen A/S, Danimarka firmasından temin edilmiştir.

3.1.2 Test kültürleri

Isabella (*Vitis labrusca* L.) üzümünün patojen mikroorganizmalar üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonlarının belirlenmesinde *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, *Listeria monocytogenes* Scott A ve *Bacillus cereus* ATCC 10876 test kültürü olarak kullanılmıştır. Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda bulunan kültürler kullanılmıştır.

3.1.3 Isabella (*Vitis labrusca* L.) üzümü

Isabella (*Vitis labrusca* L.) türü üzümler Samsun ilinin Alaçam ilçesinden temin edilmiştir (Şekil 3.1). Üzümler bir gün içerisinde Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne ulaştırılmış ve bir kısmı taze olarak kullanılmaya başlanmıştır. Daha sonra kullanılacak üzümler ise Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan derin dondurucuda (A. Gallenkamp Co, Birleşik Krallık) -24°C'de depolanmıştır.



Şekil 3.1. Isabella (*Vitis labrusca* L.) üzümü

3.1.4 Yulaf ezmesi

Çalışmanın ana materyallerinden biri olan yulaf sütünün eldesinde yerel marketlerde satılan yulaf ezmesi (%100 yulaf ezmesi, Doğalsan Ltd. Şti, Ankara) kullanılmıştır. Kullanılan yulaf ezmesinin besin içeriği 100 gram için doymuş yağ (g): 0,9; enerji (kJ): 1502,0; enerji (kcal): 359,0; karbonhidrat (g): 58,6; protein (g): 12,2; tuz (g): 0,2; yağ (g): 6,5; şeker (g): 1,2 olarak belirtilmiştir.

3.1.5 İnülin

Çalışma kapsamında kullanılan inülin (Smart Kimya Tic. ve Dan. Ltd. Şti, İzmir, Türkiye) 1 kilogramlık paketler halinde temin edilmiştir.

3.1.6 Kalsiyum karbonat (CaCO_3)

Çalışma kapsamında kullanılan kalsiyum karbonat (CaCO_3 , Carlo Erba Reagents SAS, Fransa) 5 kg'luk kutu halinde satın alınmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Farklı yöntemlerle üzüm suyu üretimleri

Çalışma kapsamında kullanılacak üzümler (*Vitis labrusca* L.) Samsun ilinin Alaçam ilçesinden temin edilmiş ve aşağıda belirtilmiş olan 4 farklı üretim yöntemi ile üzüm suları hazırlanmıştır. Bu kapsamda, 4 farklı yöntem ile üretilmiş olan üzüm sularının seçilen probiyotik kültürler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK), minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK), fenolik aktivite ve DPPH değerleri belirlenmiştir.

3.2.1.1 Taze üzüm suyu (TÜS)

Taze üzüm suyunun hazırlanması için üzüm salkımları yıkandıktan sonra, hava sirkülasyonu sağlanmış oda içerisinde kağıt havluların üzerine serilerek yıkama suyunun uzaklaşması sağlanmıştır. Daha sonra, üzüm taneleri salkımlarından ayrılmış olup, steril filtreli stomacher (Bag Page +400, Interscience, Fransa) poşetlerine aktarılmış ve el ile ezilerek suları çıkarılmıştır. Elde edilen üzüm suyu temiz bir stomacher poşetine aktarılarak, -24°C’de depolanmış ve denemelerden önce 4°C’de buzdolabında (Arçelik, Türkiye) çözündürülerek kullanılmıştır.

3.2.1.2 Pastörize taze üzüm suyu (TÜSP)

Alt başlık 3.2.1.1’de belirtildiği gibi hazırlanarak elde edilen üzüm sularından 400 ml alınarak, 660 ml’lik steril kavanoz içerisine aktarılmış ve kavanozun kapağı kapatılmıştır. Kavanozlar su banyosuna (Koettermann GmbH, Almanya) yerleştirilmiştir. Hazırlanan kapağı kapalı kavanozlar ile aynı koşullarda hazırlanmış üzüm suyu içeren bir diğer kavanoz ise steril alüminyum folyo ile kapatılmış ve içerisine termometre daldırılarak sıcaklık termometre ile sürekli kontrol edilmiştir. Sıcaklık 80°C’ye yükseldiğinde 20 dakika süre ile su banyosunda bekletildikten sonra, kavanozlar su banyosundan alınmıştır (Pimentel et al., 2015). Pastörizasyonu tamamlanmış kavanozlar ters çevrilmiş ve oda

sıcaklığına soğutulmuştur. Soğutulan örnekler denemelerde kullanılmak amacıyla 4°C’de depolanmıştır.

3.2.1.3 Kaynatılarak elde edilmiş üzüm suyu (KÜS)

Kaynatılmış üzüm suyunun hazırlanması için geleneksel yöntem kullanılmıştır. Üzüm salkımları yıkandıktan sonra, hava sirkülasyonu sağlanmış oda içerisinde kağıt havluların üzerine serilerek yıkama suyunun uzaklaşması sağlanmıştır. Daha sonra, üzüm taneleri salkımlarından ayrılmış olup, baskı uygulanarak kabuğunun hafifçe çatlaması sağlanmış ve beherlere doldurulmuştur. Beherde bulunan üzümler ısıyla beraber suyunu salarken ara sıra karıştırılarak kaynaması beklenmiştir. Üzüm suyu kaynamaya başladıktan sonra 30 dakika beklenmiş ve süre sonunda kaynamış olan üzümler elek yardımıyla süzölmüştür. Elek üzerinde kalmış olan kabuk ve posa içerisinde kalan su, flavonoidler, fenoller, antosiyanin ve antioksidanlar gibi maddelerin süzölmesi için üzerine baskı uygulanarak 4 saat beklenmiştir (Gvinianidze et al., 2017). Elde edilen üzüm suyu steril 1000 ml’lik kavanozlara doldurulmuş ve denemelerde kullanılmak amacıyla 4°C’de depolanmıştır.

3.2.1.4 Kaynatılarak elde edilmiş pastörize üzüm suyu (KÜSP)

Alt başlık 3.2.1.3’te belirtildiği gibi hazırlanarak elde edilen kaynatılmış üzüm suyu steril 370 ml’lik kavanozlara 200 ml olacak şekilde doldurulmuş ve hazırlanan kapalı kavanozlar ile aynı koşullarda hazırlanmış üzüm suyu içeren bir diğer kavanoz ise su banyosunda (Koettermann GmbH, Almanya) termometre ile kontrol edilerek 80°C’de 20 dakika süre ile pastörize edilmiştir (Pimentel et al., 2015). Pastörizasyonu tamamlanan kavanozlar, ters çevrilmiş ve oda sıcaklığına soğutulmuştur. Oda sıcaklığına ulaşan kavanozlar deneylerde kullanılmak amacıyla 4°C’de depolanmıştır.

3.2.2 Farklı yöntemlerle üretilmiş üzüm sularının seçilen probiyotik kültürler ve patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması

3.2.2.1 Probiyotik kültürlerin hazırlanması

Farklı üretim yöntemleri ile hazırlanmış üzüm sularının probiyotik test kültürleri üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanılacak olan kültürler liyofilize olarak temin edildiği için, denemeler öncesinde 2 kez aktifleştirildikten sonra kullanılmıştır. Bu amaçla, liyofilize kültür paketlerinden steril spatula yardımıyla alınan az miktardaki kültürler, içerisinde 7 ml Man, Rogose and Sharpe (MRS, pH 5,7±0,2, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) sıvı besiyeri bulunan tüplere aktarılmış, 37°C’de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda, vortekslenmiş kültürden steril pipet yardımıyla 0,1 ml alınarak içerisinde steril 7 ml MRS sıvı besiyeri bulunan 2 adet tüpe aktarılmış ve 37°C’de 24 saat ikinci kez geliştirilmiştir. 24 saat sonunda probiyotik kültür geliştirilmiş tüpler vorteksledikten (Fisons P.L.C., Birleşik Krallık) sonra, 50 ml’lik steril falcon tüplerine aktarılmıştır. Falcon tüpleri 4000 rpm’de 15 dakika boyunca santrifüj (Universal 320 R, Hettich, Almanya) edilmiştir. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra süpernatantı dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmış ve 9 ml peptonlu su falcon tüpüne aktararak vortekslenmiştir. Bu işlemden sonra tekrar 4000 rpm’de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Bu işlem iki defa tekrarlanmış olup, ikinci santrifüj sonunda süpernatant kısmı alındıktan sonra falcon tüpü içerisine 2 ml peptonlu su eklenerek stok kültür hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan stok kültür %0,1 peptonlu su ile 0,5 McFarland (Grant-Bio Den-1 McFarland Densitometer, Birleşik Krallık) değerine seyreltilmiş ve bu kültürler çalışma kültürü olarak kullanılmıştır. 0,5 McFarland değerine seyreltilmiş olan çalışma kültüründen desimal dilüsyonlar hazırlanmış ve 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} dilüsyonlarından dökme plak yöntemiyle MRS agara ekim yapılmış ve petriler 37°C’de 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. 48 saat sonunda petrilere gelişen koloniler sayılmış ve kültür süspansiyonunda bulunan bakteri sayısı hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerinin belirlenmesi

testlerinde kullanılmak üzere 10^5 KOB/ml değerini oluşturacak olan uygun dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan sıvı kültürler sadece MİK değerlerini belirlemek için kullanılmıştır. Ürünlerde kullanılacak olan kültürler ürünlere eklenirken Chr. Hansen A/S, Denmark firmasından elde edilen liyofilize kültürler direkt olarak kullanılmıştır.

3.2.2.2 Patojen test kültürlerinin hazırlanması

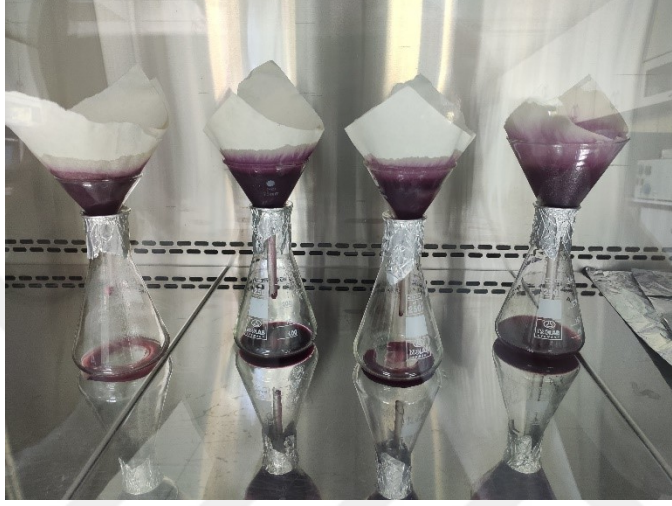
Farklı üretim yöntemleri ile hazırlanmış üzüm sularının patojen *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Thyphimurium, *Listeria monocytogenes* ve *Bacillus cereus* üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanılacak olan kültürler Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda bulunan %25'lik gliserol stoğundan alınmıştır. Test kültürleri, Trypton Soya Broth (TSB, pH $7,3 \pm 0,2$, Oxoid LTD., İrlanda) besiyerinde iki kere aktifleştirildikten sonra kullanılmıştır. Bu amaçla, gliserol stok çözeltisi çözündürüldükten sonra, kültürden 0,1 ml alınarak içerisinde 7 ml TSB sıvı besiyeri bulunan tüplere aktarılmış, 37°C 'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda, vortekslenmiş kültürden steril pipet yardımıyla 0,1 ml alınarak içerisinde steril 7 ml TSB sıvı besiyeri bulunan 2 adet tüpe aktarılmış ve 37°C 'de 24 saat ikinci kez geliştirilmiştir. 24 saat sonunda kültür geliştirilmiş tüpler vortekslenildikten (Fisons P.L.C., Birleşik Krallık) sonra, 50 ml'lik steril falcon tüplerine aktarılmıştır. Falcon tüpleri 4000 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj (Universal 320 R, Hettich, Almanya) edilmiştir. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra süpernatantı dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmış ve 9 ml peptonlu su falcon tüpüne aktararak vortekslenmiştir. Bu işlemden sonra tekrar 4000 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Bu işlem iki defa tekrarlanmış olup, ikinci santrifüj sonunda süpernatant kısmı alındıktan sonra falcon tüpü içerisine 2 ml peptonlu su eklenerek stok kültür hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan stok kültür %0,1 peptonlu su ile 0,5 McFarland (Grant-Bio Den-1 McFarland Densitometer, Birleşik Krallık) değerine seyreltilmiş ve bu kültürler çalışma kültürü olarak kullanılmıştır. 0,5 McFarland değerine seyreltilmiş olan çalışma kültüründen desimal dilüsyonlar hazırlanmış ve 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} dilüsyonlarından yayma plak yöntemiyle Trypton

Soya Agar'a ekim yapılmış ve petriler 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. 24 saat sonunda petrilere gelişen koloniler sayılmış ve kültür süspansiyonunda bulunan bakteri sayısı hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerinin belirlenmesi testlerinde kullanılmak üzere 10^5 KOB/ml değerini oluşturacak olan uygun dilüsyonlar hazırlanmıştır.

3.2.2.3 Üzüm sularının minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi

Dört farklı yöntemle üretilmiş üzüm suyu örneklerinin probiyotik kültürler (*Lactobacillus rhamnosus* LGG ve *Lactobacillus acidophilus* La-5) ve patojen bakteriler (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, *Listeria monocytogenes* Scott A ve *Bacillus cereus* ATCC 10876) için minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerlerinin belirlenmesinde mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (Vodnar et al., 2017). Bu amaçla, üzüm suları Şekil 3.2'de gösterildiği gibi kaba filtre kağıdıyla süzölmüş ve 0,45 µm şırınga filtreler (Sartorius A.G., Almanya) yardımıyla steril edilerek, steril kültür şişelerine aktarılmıştır. Örneklerin MİK değerlerinin belirlenmesinde 96 kuyucuklu mikropalakalar kullanılmıştır. İlk kuyucuğa steril üzüm suyu örneklerinden 200 µl aktarılmış ve geri kalan 7 kuyucuğa çift kuvvetli 100 µl Man, Rogose and Sharpe (MRS, pH 5,7 ±0,2, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) sıvı besiyeri konulmuştur. İlk kuyucuktan 100 µl alınarak ikinci kuyucuğa aktarılmıştır. Pipet uçları değiştirilmiş ve yeni pipet uçları ile kuyucuktaki sıvının karışması sağlanmıştır. Daha sonra ikinci kuyucuktan da 100 µl alınıp 3. kuyucuğa aktarılmıştır. Aynı işlem yedinci kuyucuğa kadar devam etmiş, en son 100 µl alınarak dışarı atılmış ve mikrodilüsyon işlemi sonlandırılmıştır. Sekizinci kuyucuğa örnek aktarılmamış olup, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Mikrodilüsyon işlemi tamamlandıktan sonra tüm kuyucuklara 100 µl çalışma kültürü (10^5 KOB/ml) aktarılmıştır. Kuyucukların içerisindeki üzüm suyu oranları birinci kuyucuktan itibaren sırasıyla %50, %25, %12,5, %6,25, %3,125, %1,5625, %0,78125, %0 olmuştur. Ekimi tamamlanan mikropalakalar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. 24 saat sonunda mikropalakalar inkübatörden çıkarılmış ve

içerisine 20 µl 1:5 oranında seyreltilmiş %1'lik metilen mavisi çözeltisi eklenmiştir (Nandy ve Venkatesh, 2010). Mikroplakalar tekrar 37°C'lik inkübatöre kaldırılmış olup, 2 saat sonra ve 24 saat sonunda renk değişimi görülmeyen kuyucuklar MİK değeri olarak kabul edilmiştir.



Şekil 3.2. Farklı yöntemlerle hazırlanmış üzüm sularının kaba filtre ile süzülmesi

3.2.2.4 Üzüm sularının minimum bakterisidal konsantrasyonunun (MBK) belirlenmesi

Üzüm sularının minimum bakterisidal konsantrasyonlarının belirlenmesinde, mikrolakalardaki birinci kuyucuktan başlayarak minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerinin görüldüğü kuyucuklara kadar, kuyucuklardan steril öze yardımı ile inokulum alınarak Mueller-Hinton Agar (MHA, pH 7,2 – 7,6, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) besiyerine plak çizim yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonu tamamlanan petrilerde gelişim kontrol edilmiş, üreme görülmeyen petrilere ekilen konsantrasyonlar minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) olarak belirlenmiştir (Owuama, 2017).

3.2.3 Farklı yöntemlerle üretilmiş üzüm sularının toplam fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi

Toplam fenolik madde analizi spektrofotometrik bir yöntem olan Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır (Cemeroğlu, 2013). Çözgen olarak %80'e seyreltilmiş %96'lık etil alkol (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) kullanılmış olup, sonuçlar gallik asit cinsinden mg GAE/L olarak verilmiştir (Cemeroğlu, 2013; Granato et al., 2011).

3.2.3.1 Kimyasalların hazırlanması

Folin-Ciocalteu (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) radikali hazır olarak konsantre sıvı formda temin edilmiş ve %10'luk folin-saf su çözeltisi olarak balon jojede hazırlanmıştır. Bu işlem için 10 ml Folin-Ciocalteu çözeltisi pipet yardımıyla 100 ml'lik balon jojeye aktarılmış ve çizgiye kadar saf su ile tamamlanmıştır.

Toplam fenolik madde analizinde doymuş sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi kullanılmaktadır (Santos et al., 2011). Doymuş sodyum karbonat çözeltisi, susuz sodyum karbonat (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) kullanılarak hazırlanmıştır. 21,4 g sodyum karbonat beherin içerisine tartılmış ve saf su ile yıkama yapılarak 100 ml'lik balon jojeye aktarılmıştır. Isı yardımıyla tamamen çözünme sağlandıktan sonra, oda sıcaklığına gelene kadar beklenmiş ve saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

3.2.3.2 Standart gallik asit eğrisinin oluşturulması

Standart eğrinin oluşturulması için farklı konsantrasyonlarda (0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm, 350 ppm, 400 ppm, 450 ppm ve 500 ppm) gallik asit çözeltileri hazırlanmıştır (Cemeroğlu, 2013). Başlangıçta 500 ppm'lik stok çözelti hazırlanmış ve bu stok çözelti üzerinden alt konsantrasyonlar hazırlanmıştır. 500 ppm'lik stok çözelti için 0,25 g gallik asit (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) tartılıp %80'lik etil alkol-su karışımı ile

yıkanarak 500 ml'lik balon jojeye aktarıldıktan sonra, balon joje %80'lik etil alkol-su karışımı ile çizgiye tamamlanmıştır. Alt konsantrasyonlar 25 ml'lik balon jojelerde hazırlanmış olup, balon jojelerin içerisine stok çözeltiden aktarılan miktarlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Daha sonra balon jojeler %80'lik etil alkol-su karışımıyla 25 ml'ye tamamlanmıştır.

Tablo 3.1. Gallik asit eğrisi için stok çözeltiden alınan sıvı miktarı

Konsantrasyon (ppm)	Stok çözelti miktarı (ml/25 ml)
50	2,5
100	5
150	7,5
200	10
250	12,5
300	15
350	17,5
400	20
450	22,5

Hazırlanan her gallik asit konsantrasyonundan 1 ml alınarak 100 ml'lik balon jojelere aktarılmış ve üzerine 75 ml saf su eklenmiştir. Karıştırıldıktan sonra 5 ml %10'luk Folin-Ciocalteu çözeltisi eklenmiş ve tekrar karıştırılmıştır. 3 dakika beklenmiş ve balon jojelere 10 ml doymuş sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. Balon jojeler saf su ile 100 ml'ye tamamlanmış ve homojen olacak şekilde karıştırılmıştır. Balon jojeler karanlık bir ortamda 60 dakika beklendikten sonra, çözeltiler Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Enstrümantel Laboratuvarı'nda bulunan spektrofotometre (Cary 60 UV-Vis, Agilent Technologies, ABD) ile 760 nm'de absorbans değerleri okunmuştur (Singleton ve Rossi, 1965; Kozłowska et al., 1983; Cemeroğlu, 2013). Elde edilen absorbans değerleri ile Absorbans/Gallik asit konsantrasyonu grafiği oluşturulmuştur. Oluşturulan gallik asit standart grafiği, üzüm suları içerisinde bulunan fenolik

madde miktarını hesaplamak için kullanılmış ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak elde edilmiştir.

3.2.3.3 Farklı yöntemlerle üretilmiş üzüm sularında toplam fenolik madde analizi

Toplam fenolik madde analizi yapılacak olan 4 farklı yöntemle (TÜS, TÜSP, KÜS, KÜSP) üretilmiş üzüm suyu örnekleri Cemeroğlu (2013) yöntemi modifiye edilerek hazırlanmıştır. Başlangıçta, üzüm suyu örneklerinden 5 ml alınarak steril bir falcon santrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 20 ml %80'lik etil alkol-su karışımı eklenmiştir. Hazırlanan örnekler vortekslenerek homojen şekilde karışması sağlanmıştır. Homojen olan örnekler 3500 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj (Universal 320 R, Hettich, Almanya) edilmiştir (Mohammadi ve Havasian, 2018). Santrifüj tamamlandıktan sonra süpernatant kısmından 16 ml alınarak başka bir falcon tüpüne aktarılmış ve üzerine 32 ml %80'lik etil alkol-su karışımı eklenmiştir. Örnekler homojen olana kadar tekrar vortekslenmiş ve ekstrakt örnekleri hazırlanmıştır. Bu işlemler sonucunda 1:15 oranında seyreltme yapılmış ve hesaplamalarda bu seyreltme göz önünde bulundurulmuştur.

Hazırlanan üzüm suyu örneklerinden veya gallik asit çözeltilerinden 1 ml alınarak 100 ml'lik balon jojelere aktarılmış ve üzerine 75 ml saf su eklenmiştir. Karıştırıldıktan sonra 5 ml %10'luk Folin-Ciocalteu çözeltisi eklenmiş ve karıştırılmıştır. Bekleme süresinin (3 dakika) sonunda, balon jojelere 10 ml doymuş sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. Balon jojeler saf su ile 100 ml'ye tamamlanmış ve homojen olacak şekilde karıştırılmıştır. Balon jojeler karanlık bir ortamda 60 dakika beklendikten sonra, çözeltiler spektrofotometre (Cary 60 UV-Vis, Agilent Technologies, ABD) ile 760 nm'de örnekler yerine 1 ml su kullanılmış şahit çözeltiye karşı okunmuştur (Singleton ve Rossi, 1965; Kozłowska et al., 1983; Cemeroğlu, 2013). Spektrofotometrede okunan absorbans değerleri, elde edilmiş absorbans/gallik asit konsantrasyonu eğrisi ile oluşturulan denklemde y yerine yerleştirilerek, üzüm suyunda bulunan fenolik maddeler, gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

3.2.4 Farklı yöntemlerle üretilmiş üzüm sularının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi

Farklı yöntemlerle üretilmiş üzüm sularının (TÜS, TÜSP, KÜS, KÜSP) antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde DPPH yönteminden yararlanılmıştır (Locatelli et al., 2009; Sridhar ve Charles, 2019). Bu amaçla, 0,0394 g DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) 100 ml'lik balon jojeye ≥ 99.9 saflıktaki metanol (Analytical grade, EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) ile kayıpsız olarak aktarılmış ve balon joje oda sıcaklığında çizgisine kadar metanol ile tamamlanmıştır. Hazırlanan 1 mM'lık DPPH çözeltiden 10 ml alınmış ve diğer 100 ml'lik balon jojeye aktarılmıştır. Balon joje oda sıcaklığında çizgiye kadar tamamlanmış ve 0,1 mM'lık DPPH çözeltisi elde edilmiştir.

Antioksidan aktivite analizi için Singh et al. (2002)'de belirtilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Hazırlanan 4 farklı üzüm suyu örneği 0,45 µm şırınga (Sartorius A.G., Almanya) filtreleri ile filtrelenmiş ve kültür şişelerine aktarılmıştır. Şahit olarak saf su ve steril kültür şişelerinde bulunan örneklerden 0,1 ml deney tüpüne aktarılmış ve üzerine hazırlanmış 0,1 mM'lık DPPH çözeltisinden 5 ml eklenerek 15 dakika boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Spektrofotometre (Cary 60 UV-Vis, Agilent Technologies, ABD), okuma yapılmadan 15 dakika önceden açılmış ve 517 nm dalga boyuna ayarlanmıştır. Cihaz, metanole karşı sıfırlandıktan sonra, üzüm örnekleri ve şahit numunenin absorbans değerleri okutulmuş ve çıkan sonuçlar şahit numuneye karşı DPPH indirgenmesi olarak Eşitlik 1'e göre hesaplanmıştır (Zhu et al., 2002).

$$\%DPPH \text{ indirgenmesi} = \frac{\text{Şahit numunenin absorbansı} - \text{Örneğin absorbansı}}{\text{Şahit numunenin absorbansı}} \times 100 \quad [1]$$

3.2.5 Yulaf sütünün hazırlanması

Yerel marketlerden temin edilen yulaf ezmesi elektrikli parçalayıcı (Touchme, Türkiye) ile laboratuvar ortamında yulaf unu haline getirilmiştir (Deswal et al., 2014). Elde edilen yulaf unundan optimizasyon koşullarına uygun

olarak 20, 60 veya 100 g alınıp bir behere tartılarak, üzerine 1000 ml distile su eklenmiş ve beher içerisine hazırlanan yulaf unu-su karışımı manyetik ısıtıcılı karıştırıcı ile sürekli karıştırılarak 90°C'ye ısıtılmış ve 90°C'ye geldikten sonra 20 dakika sabit sıcaklıkta karıştırılarak beklenmiştir. Elde edilen yulaf bulamacı Ultra-turrax (Thyristor Regler TR50, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Almanya) yardımıyla 3 dakika boyunca homojenize edilmiştir (Bernat et al., 2015). Homojenize edilen yulaf bulamacı, tülbent bezlerinden geçirilip süzülerek yulaf sütü haline getirilmiştir (Deswal et al., 2014). Süzülen yulaf sütü, 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavda (Hirayama Holdings Co., Ltd, Japonya) sterilize edildikten sonra, üretimde kullanılmıştır (Bernat et al., 2015). Sterilizasyon işleminin yeterliliği, sterilize edilmiş yulaf sütünden aseptik ortamda örnek alınarak, desimal dilüsyon yapılmadan genel amaçlı besiyeri olan Plate Count Agar (PCA, pH 7,0±0,2, Oxoid Limited, Birleşik Krallık) besiyerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılarak kontrol edilmiştir.

3.2.6 Liyofilize kültürlerdeki probiyotik suşların sayılarının belirlenmesi

Bu çalışmada kullanılacak olan *Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Lactobacillus rhamnosus* GG suşları liyofilize kültür olarak Chr. Hansen A/S, Denmark firmasından temin edilmiş, temin edilen liyofilize kültürlerdeki canlı mikroorganizma sayısı plak sayım yöntemi ile belirlenmiştir. Liyofilize kültürden 1 g alındıktan sonra 9 ml steril %0,1 (w/v) peptonlu su içerisine aktarılmış ve uygun dilüsyonlar hazırlandıktan sonra de MRS Agar besiyerine mikroaerofilik ortam oluşturması için çift tabakalı olacak şekilde ekim yapılmıştır. Petriler 37°C'de 72 saat inkübe edildikten sonra, liyofilize kültürün 1 gramında bulunan canlı mikroorganizma sayısı hesaplanmıştır (Ding and Shah, 2008; Pimentel et al., 2015).

3.2.7 Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş yulaf sütü içeceği üretim koşullarının belirlenmesi için yapılan ön denemeler

3.2.7.1 *Lactobacillus rhamnosus* LGG için yapılan ön denemeler

Ön deneme kapsamında anne sütüne yakınlığı ve besleyici içeriği ile bilinen keçi sütü ve laboratuvar ortamında hazırlanan yulaf sütü örneklerinde probiyotik kültürlerin canlılığı kontrol edilmiştir. Ayrıca yulaf sütü örneklerine aynı koşullarda hazırlanan ve içerisinde inülin bulunan örnekler de kullanılmıştır. Bu kapsamda inülinin, probiyotik *L. rhamnosus* LGG üzerindeki etkisi incelenmiştir. Keçi sütü örnekleri, yerel marketlerden satılan UHT keçi sütleri ile hazırlanmıştır.

Yapılan ön deneme çalışmasında %8 (w/v)'lik yulaf sütü Alt başlık 3.2.5'te belirtildiği gibi hazırlanmış ve ön denemeler süresince kullanılmıştır. Ön denemelerde kullanılan üzüm suyu MİK değeri ve fenolik madde içerikleri göz önünde bulundurularak kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyu (KÜSP) olarak seçilmiştir. Ön denemeler süresince yulaf sütü yerine kontrol örneği olarak zengin besin içeriği nedeniyle keçi sütü kullanılmış ve örnekler oluşturulmuştur. Ön denemeler süresince %0,1 (w/w) liyofilize kültür içeren 6 farklı örnek oluşturulmuş ve 37°C'de farklı sürelerde fermantasyona tabi tutulmuştur. Bu örnekler ve fermantasyon süreleri Tablo 3.2'de verilmiştir. Fermantasyonu tamamlanan örneklerin inkübasyon süreci sonlandırılarak 4°C'de 60 günlük depolamaya alınmıştır. Yapılan ön deneme çalışmasında fermantasyon başında, fermantasyon sonunda ve depolama süresince 7 günde bir probiyotik sayımları ve pH ölçümleri yapılmıştır.

Tablo 3.2. Ön denemeler süresince oluşturulan örnekler ve fermantasyon süreleri

Örnek	Fermantasyon süresi
90 g yulaf sütü + 10 ml üzüm suyu	24 saat
90 g yulaf sütü + 10 ml üzüm suyu + inülin	24 saat
100 g yulaf sütü	36 saat
100 ml keçi sütü	72 saat
90 ml keçi sütü + 10 ml üzüm suyu	24 saat
100 ml üzüm suyu	24 saat

3.2.7.2 *Lactobacillus acidophilus* La-5 için yapılan ön denemeler

***L. acidophilus* La-5 için kültür hazırlama yönteminin belirlenmesi:**

L. acidophilus La-5'in yulaf sütlerine inokülasyon koşullarının belirlenmesi amacı ile üç farklı inokülasyon yöntemi araştırılmıştır. Probiyotik kültür MRS Broth besiyerinde geliştirilerek, direkt olarak liyofilize kültür kullanılarak ve yulaf sütünde geliştirilmiş kültür kullanılarak olmak üzere üç farklı şekilde hazırlanmış kültürler yulaf sütü ile hazırlanan fermantasyon ortamına inoküle edilmiştir.

MRS Broth besiyerinde geliştirilmiş kültür süspansiyonunun hazırlanması için liyofilize kültürlerden 0,1 g alınmış ve 7 ml MRS sıvı besiyeri bulunan beş farklı tüpte 2 kez aktifleştirilmiştir. Bu işlem sonrasında kültürler birleştirilerek, 4500 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj (Universal 320 R, Hettich, Almanya) edilmiştir. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra süpernatantı dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmış ve 9 ml peptonlu su falcon tüpüne aktararak vortekslenmiştir. Bu işlemden sonra tekrar 4500 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Bu işlem iki defa tekrarlanmış olup, ikinci santrifüj sonunda süpernatant kısmı alındıktan sonra falcon tüpü içerisine 2 ml peptonlu su eklenerek stok kültür hazırlanmıştır. Elde edilen stok kültürden içerisinde %5 (w/w) oranında üzüm suyu ve %1,7 (w/w) oranında inülin bulunan %8'lik konsantrasyona sahip 200 g yulaf sütü örneğine 0,2 ml aktarılmış ve 24 saat boyunca 37°C'de fermantasyona tabi tutulmuştur.

Yulaf sütünde geliştirilmiş kültürün hazırlanması için, liyofilize kültürden 0,1 g alınmış ve içerisinde 7 ml MRS sıvı besiyeri bulunan ortamda geliştirilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda, kültürden 2 ml alınarak içerisinde 200 g yulaf sütü (%8, w/w) bulunan kavanoza aktarılmış ve 24 saat boyunca 37°C'de fermente edilmiştir. Fermantasyonu tamamlanan yulaf sütünden 40 g alınmış ve içerisinde 160 g %8 (w/w)'lik yulaf sütü bulunan besiyeri şişesine aktarılmış ve tamamen homojenize olana kadar karıştırılmıştır. Elde edilen kültür içeren yulaf sütünden 40 g alınarak içerisinde %5 (w/w) oranında üzüm suyu ve

%1,7 (w/w) oranında inülin bulunan %8'lik konsantrasyona sahip 200 g yulaf sütü örneğine aktarılmış ve 24 saat boyunca 37°C'de fermentasyona tabi tutulmuştur.

Üçüncü inokülasyon yönteminde ise liyofilize kültür %0,2 (w/w) olacak şekilde tartılmış direkt olarak içerisinde %5 (w/w) oranında üzüm suyu ve %1,7 (w/w) oranında inülin bulunan %8'lik konsantrasyona sahip 200 g yulaf sütü örneğine aktarılmıştır. Hazırlanan örnekler 24 saat boyunca 37°C'de fermentasyona tabi tutulmuştur.

Üç farklı şekilde inokulum hazırlanarak oluşturulan örnekler için fermentasyon başlangıcında, fermentasyon sonunda olmak üzere pH değerleri ölçülmüş ve probiyotik sayıları incelenmiştir.

İnokulum miktarı arttırılarak ve farklı kültürler kullanılarak yulaf sütü ve soya sütünün karşılaştırılması kapsamında yapılan ön denemeler:

Bu denemede farklı zamanlarda alınan liyofilize kültürlerin farklı ekim yöntemleri ve besin ortamlarında (yulaf sütü ve soya sütü) canlılığı incelenmiştir. Kültür eklenme yöntemini değiştirilerek hazırlanan 200 g yulaf sütü örneklerinin içerisine 0,4 ml kültür süspansiyonu ilave edilmiş ve 24 saat boyunca 37°C'de fermente edilmiştir. Fermentasyon başlangıcında, fermentasyonun 16. saatinde ve fermentasyon sonunda probiyotik sayıları ve pH değerleri kontrol edilmiştir.

Önceki ön denemede yukarıda belirtildiği şekilde, MRS Broth besiyerinde hazırlanan kültür süspansiyonunda bulunan mikroorganizma sayısını arttırmak amacıyla 10 farklı tüpte gelişen mikroorganizmaların karışımı ile kültür süspansiyonu hazırlanmıştır. İnoküle edilen kültür miktarı da 0,2 ml yerine, 0,4 ml olarak inoküle edilmiştir. Stok kültürden içerisinde %5 (w/w) oranında üzüm suyu ve %1,7 (w/w) oranında inülin bulunan 190 g %8'lik konsantrasyona sahip yulaf sütüne 0,4 ml aktarılmıştır.

Mikrobiyoloji laboratuvarında bulunan aynı firmadan daha önceden temin edilmiş liyofilize kültürlerden de aynı şekilde kültür hazırlanarak, elde edilen stok

Çözeltiden 0,4 ml alınmış ve içerisinde %5 (w/w) oranında üzüm suyu ve %1,7 (w/w) oranında inülin bulunan 190 g %8'lik konsantrasyona sahip yulaf sütüne ve yerel marketlerden satın alınan ve %5 (w/w) oranında üzüm suyu ve %1,7 (w/w) oranında inülin eklenen 190 g soya sütüne (Alpro, Belçika) eklenmiştir. Hazırlanan  rnekler 24 saat boyunca 37 C'de fermentasyona tabi tutulmuştur.

Liyofilize kültürün direkt olarak kullanıldığı denemelerde, Chr. Hansen A/S firmasından daha önceden temin edilmiş liyofilize kültürlerden ve yine aynı firmadan proje kapsamında temin edilen liyofilize kültürlerden %0,2 (w/w) olacak şekilde tartılmıştır. Tartılan her iki kültür ayrı ayrı işleme alınmıştır. Yulaf sütü ile oluşturulan örneklerin içerisinde %5 (w/w) oranında üzüm suyu ve %1,7 (w/w) oranında inülin bulunan %8'lik konsantrasyona sahip yulaf sütü olarak belirlenmiştir. Oluşturulan yulaf sütü örneklerine önceden temin edilen ve proje kapsamında temin edilen liyofilize kültürler eklenmiştir. Hazırlanan  rnekler 24 saat boyunca 37 C'de fermentasyona tabi tutulmuştur.

Laboratuvar ortamında üretilen yulaf sütü ile yerel marketlerde satılan yulaf sütünün karşılaştırılması:

Bu çalışmada yerel marketlerde hazır olarak satılan yulaf sütü ile laboratuvar ortamında hazırlanan yulaf sütünün probiyotik *L. acidophilus* La-5 suşunun canlılığına etkisi araştırılmıştır. Yapılan  n denemede yerel marketlerden alınan yulaf sütü (Alpro, Belçika) ve laboratuvar ortamında Alt başlık 3.2.5'te belirtildiği gibi hazırlanan %6 (w/w) konsantrasyona sahip yulaf sütü karşılaştırılmıştır. Denemelerde  rnekler içerisine %5 (w/w) oranında üzüm suyu ve %0,5 (w/w) oranında liyofilize kültür eklenmiştir. Hazırlanan  rnekler 24 saat boyunca 37 C'de fermentasyona tabi tutulmuştur. Oluşturulan örneklerin fermentasyon başında ve sonunda probiyotik sayısı ve pH değerlerindeki değişimi incelenmiştir.

Yulaf sütlerine ilave edilen sükroz ve  -amilaz enziminin *L. acidophilus* La-5'in üremesi üzerine etkisinin belirlenmesi:

Yapılan ön denemelerde fermantasyon süresinin sonunda *L. acidophilus* La-5 suşunun istenen seviyelerde canlılığını sürdüremediği tespit edilmiştir. Bu aşamada, yulaf sütüne ilave edilen sükrozun etkisini ve yulafta bulunan karbonhidratların α -amilaz enzimi ile parçalanması sonucunda elde edilen ortamın *L. acidophilus* La-5 suşunun canlılığı üzerine etkisini araştırmak amaçlanmıştır. Yapılan ön denemede laboratuvar ortamında Alt başlık 3.2.5'te belirtildiği gibi hazırlanan %6 (w/w) konsantrasyona sahip yulaf sütleri sade olarak, sükroz ve α -amilaz enzimi eklenerek hazırlanmış ve 3 farklı yulaf sütü oluşturulmuştur. Yapılan ön deneme 3 tekrar, 2 paralel olacak şekilde yapılmıştır. Oluşturulan örnekler için fermantasyon başlangıcında, fermantasyon sonunda olmak üzere pH değerleri ölçülmüş ve probiyotik sayıları incelenmiştir.

Sade yulaf sütü ile örneklerin hazırlanması için, laboratuvar ortamında Alt başlık 3.2.5'te belirtildiği gibi hazırlanan %6 (w/w) konsantrasyona sahip yulaf sütü içerisine %0,1 (w/w) olacak şekilde kültür ve %1,7 (w/w) olacak şekilde inülin eklenmiş ve 24 saat boyunca 37°C'de fermente edilmiştir.

Sükroz eklenen yulaf sütlerinin hazırlanması için, laboratuvar ortamında hazırlanan %6 (w/w) konsantrasyona sahip yulaf sütünün içerisine %1,5 (w/w) olacak şekilde sükroz (Difco™, Becton, Dickinson ve Company, ABD) eklenmiş ve yulaf sütleri homojenize olacak şekilde karıştırılmıştır. Elde edilen sükroz içerikli yulaf sütleri 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavda (Hirayama Holdings Co., Ltd, Japonya) sterilize edildikten sonra ön denemelerde kullanılmıştır. Hazırlanan yulaf sütünün içerisine %0,1 (w/w) olacak şekilde liyofilize kültür ve %1,7 (w/w) olacak şekilde inülin eklenmiş ve 24 saat boyunca 37°C'de fermantasyona tabi tutulmuştur.

Yulaf sütüne α -amilaz enzimi eklenerek hazırlanan örnekler için, laboratuvar ortamında hazırlanan yulaf sütlerinin (%6, w/w) içerisine %2,1 (w/w) olacak şekilde α -amilaz enzimi (Smart Kimya Tic. ve Dan. Ltd. Şti, İzmir, Türkiye) eklenmiş ve enzimin optimum sıcaklığı olan 55°C'de 49 dakika boyunca su banyosunda bekletilmiştir (Deswal et al., 2014). Oda sıcaklığına soğutulmuş

örneklerin içersine %0,1 (w/w) liyofilize kültür ve %1,7 (w/w) olacak şekilde inülin eklendikten sonra, 24 saat boyunca 37°C’de fermente edilmiştir.

Fermantasyon öncesinde ılımlı asidik ortamda bekletildikten sonra veya direkt olarak asidik ortama inoküle edilen *L. acidophilus* La-5 kültürünün pH 3,5’te fermentasyon süresince canlılığının araştırılması

Yapılan bu çalışmada, önceden ılımlı asit (pH 5,0) ortamda tutulduktan sonra veya direkt olarak asidik ortama maruz bırakılan kültürlerin pH 3,5’te fermentasyon süresince sayıları belirlenmiştir. Bu kapsamda pH 3,5 düzeyine ayarlanmış MRS Broth veya yulaf sütü örneklerine kültür süspansiyonu direkt eklenerek veya pH 5,0’da 1 saatlik inkübasyon süresinin sonunda pH 3,5 düzeyine ayarlanmış MRS Broth veya yulaf sütüne inoküle edilerek önceden ılımlı asidik ortama maruz kalmış olan kültürlerin aside direnci araştırılmıştır.

Liyofilize *L. acidophilus* La-5 kültüründen MRS Broth besiyerine ekim yapılarak, Alt başlık 3.2.7.2’de belirtildiği şekilde kültür süspansiyonu hazırlanmıştır.

Laboratuvar ortamında Alt başlık 3.2.5’te belirtildiği gibi hazırlanan %6 (w/w) konsantrasyona sahip yulaf sütleri kullanılmıştır. Hazırlanan yulaf sütlerinin pH değerleri steril %10’luk laktik asit yardımıyla ayrı olarak 3,5 ve 5 düzeylerine ayarlanmıştır. Elde edilen pH 3,5 seviyesindeki yulaf sütlerinden 100 g ve 90 g alınarak iki ayrı steril erlenmayere aktarılmıştır. 100 g yulaf sütü içersine, hazırlanan kültür süspansiyonundan 1 ml eklenmiş ve 8 saat boyunca 37°C’de fermente edilmiştir.

pH 5,0 seviyesindeki 10 ml yulaf sütü içeren tüpe 1 ml kültür süspansiyonu eklenmiştir. Vorteks ile karıştırılarak homojenize edildikten sonra, 37°C’de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda, içersinde 90 ml pH 3,5 seviyesindeki yulaf sütü bulunan erlenmayere aktarılmış ve 37°C’de 8 saat fermente edilmiştir. Her iki yulaf sütü için de fermentasyon süresi başında ve fermentasyon süresi boyunca her saat başı probiyotik bakteri sayımı yapılmıştır.

Aynı işlemler pH 3,5 ve 5,0 düzeylerine ayarlanmış MRS Broth besiyerinde de gerçekleştirilmiştir.

Yulaf sütlerine ilave edilen kalsiyum karbonatın *L. acidophilus* La-5'in üremesi üzerine etkisinin belirlenmesi:

Bu bölümün birinci aşamasında, pH düşmesini engellemek için iki farklı oranda hazırlanmış yulaf sütlerine (%6, %10, w/w) ilave edilen kalsiyum karbonatın *L. acidophilus* La-5 suşu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Laboratuvar ortamında Alt başlık 3.2.5'te belirtildiği gibi %6 ve %10 (w/w) oranında yulaf sütleri hazırlanmıştır. Ayrıca ayrı olarak hazırlanan %6 (w/w) konsantrasyona sahip yulaf sütleri içerisine 120 mg Ca^{+2} /100 ml olacak şekilde CaCO_3 eklenmiş (300 mg CaCO_3 /100 ml) ve yulaf sütleri steril edilmiştir. Hazırlanan 3 farklı yulaf sütünün içerisine %0,1 (w/w) olacak şekilde liyofilize kültür ilave edilmiş ve 24 saat boyunca 37°C'de fermente edilmiştir. Fermantasyon başlangıcında, fermantasyonun 8. saatinde ve fermantasyon sonunda probiyotik sayıları ve pH değerleri kontrol edilmiştir.

Bu bölümün ikinci aşamasında, kalsiyum karbonat ve farklı konsantrasyonlarda üzüm suyu içeren %6 (w/w) yulaf sütüne probiyotik ilavesinden sonra 30 saatlik fermantasyon süresi boyunca pH değişimi izlenmiştir. Laboratuvar ortamında Alt başlık 3.2.5'te belirtildiği gibi hazırlanan %6 (w/w) konsantrasyona sahip yulaf sütleri içerisine 120 mg Ca^{+2} /100ml olacak şekilde CaCO_3 eklenmiş ve yulaf sütleri steril edilmiştir. Hazırlanan yulaf sütleri ile içerisinde %5, %15 ve %25 üzüm suyu ve %0,1 liyofilize kültür içeren örnekler oluşturulmuş ve 30 saat boyunca 37°C'de fermente edilmiştir. Oluşturulan örneklerin fermantasyon başlangıcından itibaren ilk 10 saatte saat başı olmak üzere, 24. 27. ve 30. saatlerde pH değerleri ölçülmüştür. Oluşturulan örneklerin pH değişimleri göz önünde bulundurularak fermantasyon süresinin hesaplanması amaçlanmıştır.

Bu bölümün üçüncü aşamasında, kalsiyum karbonat ve farklı konsantrasyonlarda üzüm suyu (%5, %15 ve %25, w/w) içeren yulaf sütüne (%6,

w/w) probiyotik ilavesinden sonra 8 ve 24 saatlik fermentasyon süresince pH değerlerinin ve probiyotik sayılarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, ikinci aşamada belirtilen yöntemlerle örnekler hazırlandıktan sonra %0,2 (w/w) liyofilize kültür ilavesi yapılmıştır. %5, %15 ve %25 üzüm suyu ve %0,2 (w/w) liyofilize kültür içeren bir örnek grubu 8 saat, aynı koşullarda hazırlanmış diğer örnek grubu ise 24 saat boyunca 37°C'de fermente edilmiştir. Oluşturulan örneklerin her iki örnek grubu için de fermentasyon başlangıcında, fermentasyon sonunda olmak üzere pH değerleri ölçülmüş ve probiyotik sayıları belirlenmiştir.

Bu bölümün ilk üç aşamasında örneklerle Bedani et al. (2013) belirtildiği şekilde 120 mg Ca^{+2} /100 ml yulaf sütü miktarında CaCO_3 eklenerek ön denemeler gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada ise, farklı konsantrasyonlarda kalsiyum karbonat eklenmesinin probiyotiklerin canlılığı üzerine etkisi araştırılmıştır. Laboratuvar ortamında hazırlanan %6 (w/w) konsantrasyona sahip yulaf sütleri içerisine 120 mg Ca^{+2} /100ml olacak şekilde CaCO_3 eklenmiş ve yulaf sütleri steril edilmiştir. Liyofilize *L. acidophilus* La-5 kültüründen MRS sıvı besiyerine inokülasyon yapılmış ve 37°C'de 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda, kültürden 2 ml alınarak 200 g %6 (w/w)'lık yulaf sütüne aktarılmıştır. Fermentasyonu (37°C'de 24 saat) tamamlanan yulaf sütünden 20 g alınmış ve içerisinde 160 g %6 (w/w)'lık yulaf sütü bulunan besiyeri şişesine aktarılmış ve tamamen homojenize olana kadar karıştırılmıştır. Elde edilen kültür içeren yulaf sütünden 20 g alınarak içerisinde 60, 120 ve 240 mg Ca^{+2} /100ml ve %25 (w/w) üzüm suyu içeren 3 farklı 130 g %6 (w/w)'lık konsantrasyona sahip yulaf sütüne aktarılmıştır. Kontrol örneği olarak ise 120 mg Ca^{+2} /100ml içeren %6 (w/w)'lık konsantrasyona sahip yulaf sütü içerisine %0,2 (w/w) olacak şekilde liyofilize kültür eklenerek hazırlanmıştır. Hazırlanan tüm örnekler ve kontrol grubu 8 saat boyunca 37°C'de fermentasyona tabi tutulmuştur. Oluşturulan örneklerin fermentasyon başlangıcında ve fermentasyon sonunda olmak üzere pH değerleri ölçülmüş ve probiyotik sayıları belirlenmiştir.

3.2.8 Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş yulaf sütü içeceği üretiminin yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu

Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş yulaf sütü içeceğinin üretiminde kullanılacak olan üzüm suyu hazırlama yöntemi ve üzüm suyu oranı proje kapsamında yapılan önceki analizlerle belirlenmiştir. Oluşturulan dört farklı üzüm suyunun probiyotik bakteriler ve patojen mikroorganizmalar için elde edilen MİK değerleri ve fenolik madde içerikleri göz önünde bulundurularak en uygun üzüm suyu seçilmiştir. MİK değerleri sonucunda kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyu (KÜSP) patojenler üzerinde daha iyi sonuçlar göstermiştir. Ayrıca yapılan MİK testlerinde probiyotiklerin %25 üzüm suyu oranında inhibe edilmediği saptanmıştır. Elde edilen fenolik madde içeriği sonuçlarına göre KÜSP üzüm suyunun fenolik madde içeriğinin diğer üzüm sularından daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu sebeple optimizasyon için KÜSP üzüm suyu seçilmiştir. Seçilen üzüm suyu oranının maksimum değeri ise %25 olacak şekilde belirlenmiş ve Design Expert (Versiyon 7.0.0, Stat Ease Corporation, ABD) paket programı Box-Behnken yöntemi ile optimizasyon deneme deseni oluşturulmuştur. Optimizasyon koşulları tasarımında seçilen bağımlı değişkenler Tablo 3.3'te belirtilmiştir.

Tablo 3.3. Her iki mikroorganizma için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımlı değişkenler

Bağımlı Değişkenler	Birimler
pH	-
Probiyotik Bakteri Sayısı	log KOB/ml
Tat	puan
Yabancı Tat	puan
Asitlik	puan
Aroma	puan
Kıvam	puan
Genel Kabul Edilebilirlik	puan
Su Tutma Kapasitesi	yüzde (%)

L. rhamnosus LGG için seçilen bağımsız değişkenlerin seviyeleri Tablo 3.4'te, bu değişkenlere bağlı olarak oluşturulan deneme deseni ise Tablo 3.5'te verilmiştir (Gupta et al., 2010). Kontrol grubu olarak sadece yulaf sütü ve sadece üzüm suyu ve bunların inülin içerikli örnek kombinasyonları ile de denemeler yapılmıştır.

Tablo 3.4. *L. rhamnosus* LGG için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımsız değişkenler ve faktörlerin seviyeleri

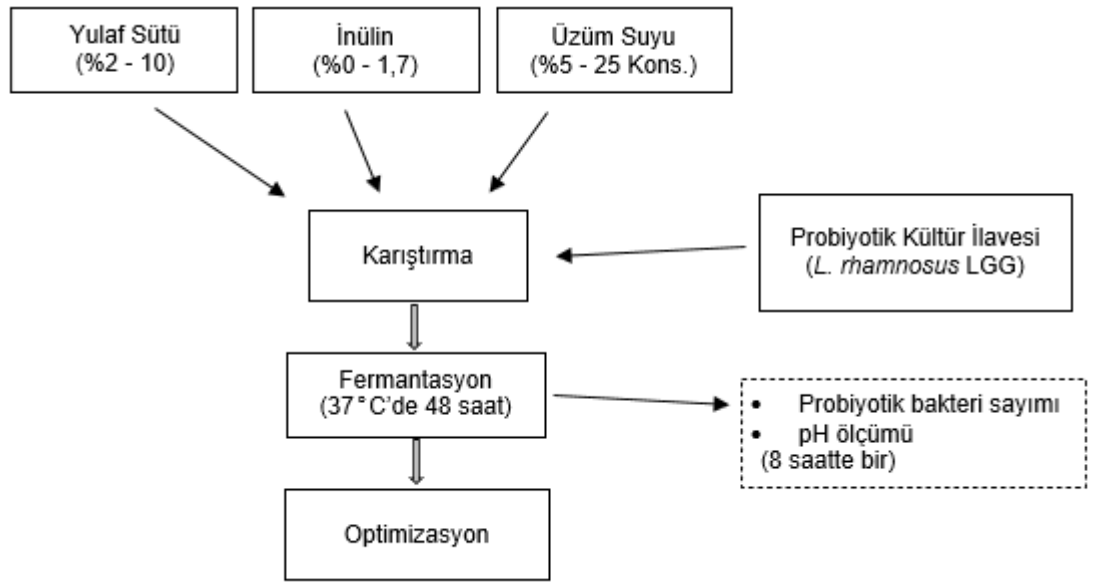
Bağımsız Değişkenler	Birimler	Faktör Seviyeleri		
		-1	0	+1
Üzüm suyu	% (w/w)	5	15	25
Yulaf sütü	% (w/w)	2	6	10
İnülin	% (w/w)	0	0,85	1,7

Tablo 3.5. *L. rhamnosus* LGG için Desing Expert programından elde edilen deneme deseni.

RUN	Üzüm suyu (%)	Yulaf sütü (%)	İnülin (%)
1	5	6	1,7
2	5	2	0,85
3	15	6	0,85
4	25	10	0,85
5	15	10	1,7
6	15	10	0
7	15	2	0
8	15	6	0,85
9	15	6	0,85
10	5	6	0
11	15	6	0,85
12	15	2	1,7

13	5	10	0,85
14	25	6	0
15	25	2	0,85
16	15	6	0,85
17	25	6	1,7

Üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği üretiminin optimizasyonu için farklı %5 – 25 üzüm suyu oranları ile %2 – 10 yulaf içerikli farklı yulaf sütleri ve %0 – 1,7 oranlarında inülin ile deneme deseni oluşturulmuştur (Alves et al., 2013). Daha sonra probiyotik liyofilize *L. rhamnosus* LGG kültürü ürün içerisinde %0,1 (w/w) oranında olacak şekilde ilave edilmiş ve 37°C’de fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyon başlangıcında ve 48 saatlik fermentasyon süresi boyunca sekiz saatte bir örnekler alınarak probiyotik bakteri sayımları yapılmış ve pH değerleri ölçülmüştür. Bu şekilde fermentasyon süresi boyunca probiyotik sayılarındaki değişimi incelenmiştir ve sonuçlara göre optimum ürün koşulları ve fermentasyon süreleri belirlenmiştir. Üzüm suyu içeren probiyotik içerikli yulaf sütü içeceğinin optimizasyon akış şeması ve analizleri Şekil 3.3’te gösterilmiştir.



Şekil 3.3. *L. rhamnosus* LGG kültürü ile hazırlanan Isabella üzüm suyu içeren probiyotik içerikli yulaf sütü içeceğinin optimizasyon akım şeması

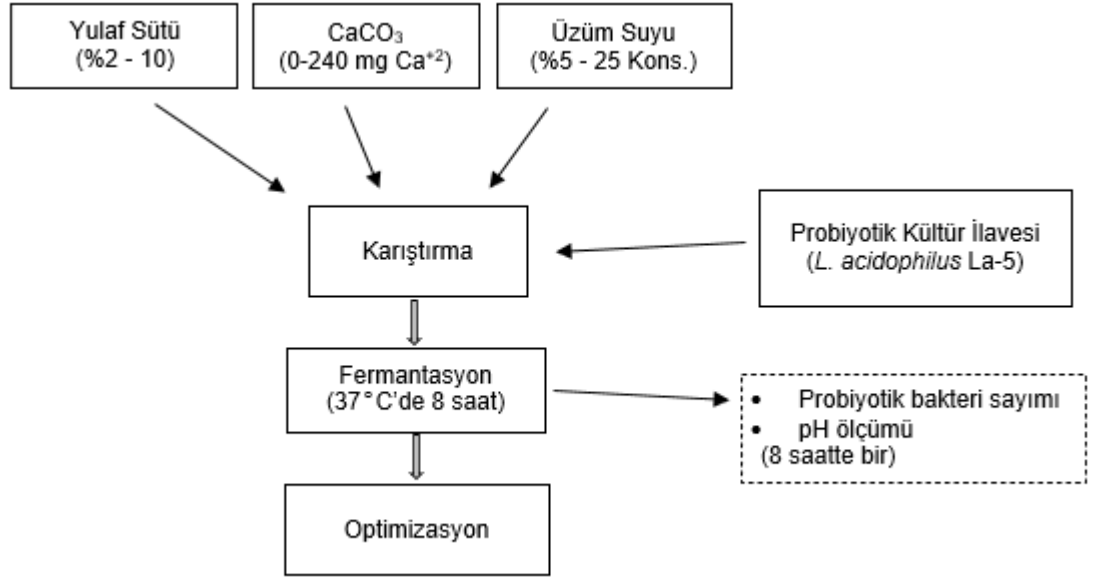
L. acidophilus La-5 için optimizasyon öncesinde yapılan ön denemeler ile fermantasyon süresi 8 saat olarak belirlenmiş ve inülin kullanımının *L. acidophilus* La-5 üzerinde etkisinin olmadığı görülmüştür. Yapılan ön denemeler kapsamında Bedani et al. (2013) tarafından belirlenen kalsiyum karbonat miktarının *L. acidophilus* La-5 optimizasyonunda kullanımını uygun bulunmuş ve yeni deneme deseni oluşturulmuştur. Oluşturulan deneme desenin *L. acidophilus* La-5 için bağımsız değişkenlerin seviyeleri Tablo 3.6'da gösterilmiştir. Bu değişkenlere bağlı olarak oluşturulan deneme deseni ise *L. acidophilus* La-5 için Tablo 3.7'de verilmiştir (Gupta et al., 2010). Kontrol grubu olarak sadece yulaf sütü ve sadece üzüm suyu ve bunların kalsiyum karbonat içerikli örnek kombinasyonları ile de denemeler yapılmıştır. Fermantasyon başlangıcında ve sonunda örnekler alınarak probiyotik bakteri sayımları yapılmış ve pH değerleri ölçülmüştür. Bu şekilde probiyotik sayıları incelenmiştir ve sonuçlara göre optimum ürün koşulları belirlenmiştir. Isabella üzüm suyu içeren probiyotik içerikli yulaf sütü içeceğinin optimizasyon akış şeması ve analizleri Şekil 3.4'te gösterilmiştir.

Tablo 3.6. *L. acidophilus* La-5 için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımsız değişkenler ve faktörlerin seviyeleri

Bağımsız Değişkenler	Birimler	Faktör Seviyeleri		
		-1	0	+1
Üzüm suyu	% (w/w)	5	15	25
Yulaf sütü	% (w/w)	2	6	10
Ca ⁺²	mg/100 ml	0	120	240

Tablo 3.7. *L. acidophilus* La-5 için Desing Expert programından elde edilen deneme deseni.

RUN	Üzüm suyu	Yulaf sütü	Ca ⁺²
	(%)	(%)	(mg/100 ml yulaf sütü)
1	6	15	120
2	6	15	120
3	6	5	240
4	6	5	0
5	2	15	0
6	6	25	0
7	6	15	120
8	10	15	240
9	2	5	120
10	6	15	120
11	10	25	120
12	10	5	120
13	2	25	120
14	6	25	240
15	2	15	240
16	6	15	120
17	10	15	0



Şekil 3.4. *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan Isabella üzüm suyu içeren probiyotik içerikli yulaf sütü içeceğinin optimizasyon akım şeması

3.2.9 Optimize edilmiş koşullarda Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin validasyonu

Yapılan optimizasyon çalışmalarında elde edilen optimum değerlerin *L. rhamnosus* LGG için %6,74'lük yulaf içeriğine sahip yulaf sütü olduğunu ve ürünün %25 oranında üzüm suyu ve %1,53 oranında inülin içermesini ve en etkili fermantasyon süresinin ise 24 saat olduğunu göstermiştir. *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan ürünün optimum içeriğinin ise %5,24'lük yulaf içeriğine sahip yulaf sütü ve %24,99 oranında üzüm suyu ve 197,35 mg Ca⁺²/100 ml yulaf sütü oranında CaCO₃ içeren formülasyon olduğu tanımlanmıştır. Bu örneklerle bağlı olarak elde edilen öngörü değerlerinin validasyonu için optimum koşullar ile örnekler 3 paralel, 2 tekrar olarak tekrardan hazırlanmıştır. Hazırlanan örneklerin optimum koşullar için programın öngördüğü değer aralıklarına uygunluğu kontrol edilmiştir. Hazırlanan örneklerle pH kontrolü, probiyotik bakteri sayımı ve duyu testler uygulanmıştır. Elde edilen sonuçların programın öngördüğü değerlere uygunluğu sağlandığı zaman ise Isabella üzümü ile zenginleştirilmiş yulaf sütü içeceğinin üretimine başlanmıştır.

3.2.10 Optimize edilmiş koşullarda fermantasyon boyunca üreme eğrilerinin ve pH değerlerinin belirlenmesi

Validasyonu sağlanmış *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 suşları ile optimum içeriklerde örnekler hazırlanmıştır. *L. rhamnosus* LGG suşları %6,74'lük yulaf içeriğine sahip yulaf sütü içerisine %25 oranında üzüm suyu ve %1,53 oranında inülin eklenmiş ve 37 °C'de 24 saat fermente edilmiştir. *L. acidophilus* La-5 suşu ise %5,24'lük yulaf içeriğine sahip yulaf sütüne %24,99 oranında üzüm suyu ve 197,35 mg/g oranında CaCO₃ eklenerek hazırlanmış ve 37 °C'de 8 saat fermente edilmiştir. Her iki suş için üzüm suyu içermeyen fakat inülin veya kalsiyum karbonat içeren yulaf sütü kontrol örnekleri ile inülin veya kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu kontrol örnekleri hazırlanmıştır. Hazırlanan deneysel örnek ve kontrol örnekleri 2 paralel, 3 tekerrür olarak hazırlanmıştır. Elde edilen örneklerin fermantasyon süresi boyunca probiyotik sayısı ve pH değişimi 2 saatte bir incelenmiş ve sonuçlara bağlı olarak probiyotik bakterilerin sayısı ve pH değişiminin grafiği Microsoft Excel programı yardımı ile elde edilmiştir.

3.2.11 Optimize edilmiş koşullarda Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği üretimi

Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği üretiminde kullanılacak olan üzüm suyu, yulaf sütü ve inülin veya kalsiyum karbonat oranları yapılan optimizasyon sonuçlarına göre belirlenmiştir. *L. rhamnosus* LGG için fermantasyon süreleri de optimizasyon deneyleri sırasında yapılan saatlik deneylerle Design Expert ve IBM SPSS Statistics paket programları yardımıyla %95 güven aralığında belirlenmiştir. Fermantasyon süresi belirlendikten sonra optimizasyon ile uygun konsantrasyonlar belirlenmiştir. Yapılan optimizasyonlar ile *L. rhamnosus* LGG ile oluşturulacak ürün için oranlar: %6,74 oranında yulaf unu içeren yulaf sütü, %25 oranında üzüm suyu ve %1,53 oranında inülin olacak şekilde tespit edilmiştir. En etkili fermantasyon süresinin ise 24 saat olduğu Design Expert programı ile belirlenmiştir.

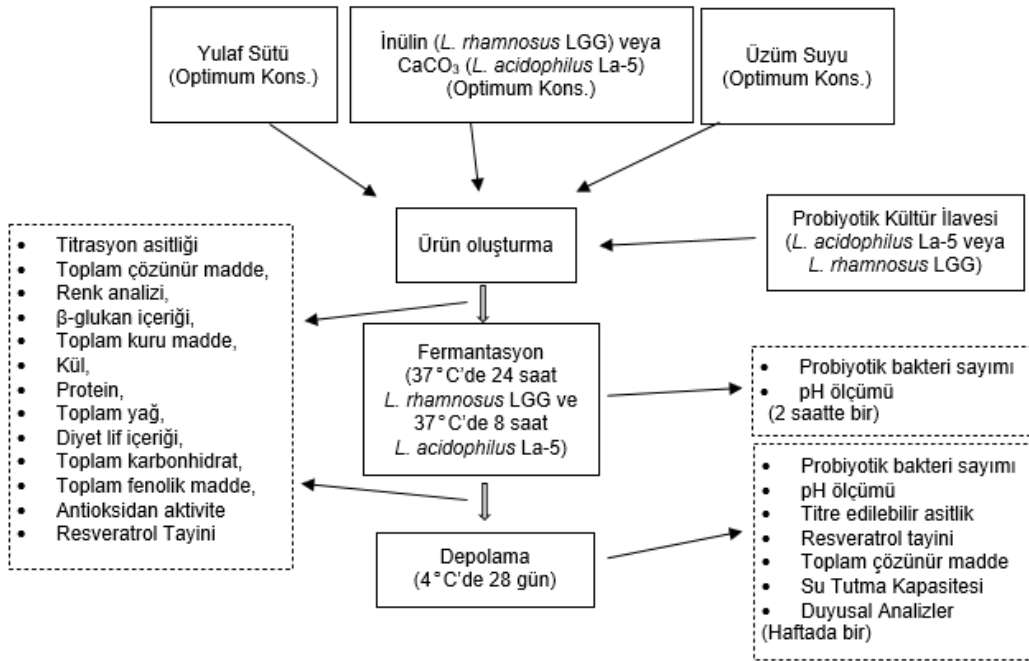
Yapılan çeşitli ön denemeler ile *L. acidophilus* La-5 suşunun pH değerinin canlılığını etkilediği görülmüştür. Ön denemeler sonucunda *L. acidophilus* La-5 için pH değerinin 4,2'nin üzerinde kalacak şekilde ayarlanması uygun bulunmuştur. *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan ön denemeler ve literatür araştırmalarında inülinin probiyotik sayısını önemli derecede arttırmadığı görülmüştür. Bu sebeple pH seviyesini yükseltmesi için CaCO_3 içeren örnekler hazırlanması ve fermentasyon süresinin 8 saat olması ile pH seviyesinin *L. acidophilus* La-5 için istenilen değerleri oluşturacağı saptanmıştır. Bu sebeple *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan ürün içeriğinin %5,24'lük yulaf içeriğine sahip yulaf sütü ve %24,99 oranında üzüm suyu ve 197,35 mg Ca^{+2} /100 ml oranında CaCO_3 içermesine ve fermentasyon süresinin ise 8 saat olmasına karar verilmiştir.

Optimize edilmiş koşullarda üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği üretimi için farklı üzüm suyu oranlarında yulaf sütü bazlı ürünler hazırlandıktan sonra probiyotik liyofilize kültürler (*L. acidophilus* La-5 veya *L. rhamnosus* LGG) ilave edilmiş ve 37 °C'de fermentasyona bırakılmıştır. Kontrol grubu olarak sadece yulaf sütü ve sadece üzüm suyu içeren örnekler ve bu örneklerin inülin (*L. rhamnosus* LGG) ve kalsiyum karbonat (*L. acidophilus* La-5) içeren versiyonları ile de kontrol denemeleri yapılmıştır. Fermentasyon işlemi süresince ürünlerin pH değeri ve probiyotik mikroorganizma sayısı iki saatte bir ölçülmüştür. Bu şekilde fermentasyon süresi boyunca probiyotik sayılarındaki değişim ve pH değeri incelenmiştir. Fermentasyon süresi tamamlanan ürünlerin süreci sonlandırılarak, ürünler 4°C'ye alınmış ve depolama boyunca gerekli olan mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duyuşal testler yapılmıştır.

3.2.12 Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin depolanması

Alt başlık 3.2.11'de belirtilen optimize edilmiş koşullarda üretilmiş *L. acidophilus* La-5 ve *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin fermentasyon süresi sonunda 28 gün boyunca +4°C'de depolanmıştır. Fermentasyon başında ve sonunda örnekler alınmış ve probiyotik sayımı, pH ölçümü, titrasyon asitliği, toplam çözünür

madde, renk analizi, β -glukan içeriği, toplam kuru madde içeriği, kül, protein, toplam yağ, diyet lif içeriği, toplam karbonhidrat, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve resveratrol analizleri yapılmıştır. Depolama süreci boyunca ise haftada bir örnek alınarak probiyotik bakteri sayımı, pH ölçümü, titrasyon asitliği, resveratrol tayini ve toplam çözünür madde analizleri ve duyuşal testler gibi mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal analizler yapılmıştır (Pimentel et al., 2015). Depolama süresince yapılan deneme planı Şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Depolama süresince yapılan analizlerin deneme planı

3.3 Mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duyuşal analiz yöntemleri

3.3.1 Probiyotik bakteri sayımı

Çalışma boyunca, ön denemelerde, optimizasyon denemeleri süresince 8 saatte bir, elde edilen optimum koşullarla oluşturulan örneklerin ve kontrol örneklerinin fermantasyon süresi boyunca 2 saatte bir ve 4°C'de 28 günlük depolama süresince haftada bir olmak üzere tüm örneklerin probiyotik bakteri sayımları yapılmıştır. Örneklerden 10 ml alınıp steril stomacher poşetine aktarıldıktan sonra, üzerine 90 ml peptonlu su eklenmiş ve stomacher cihazında

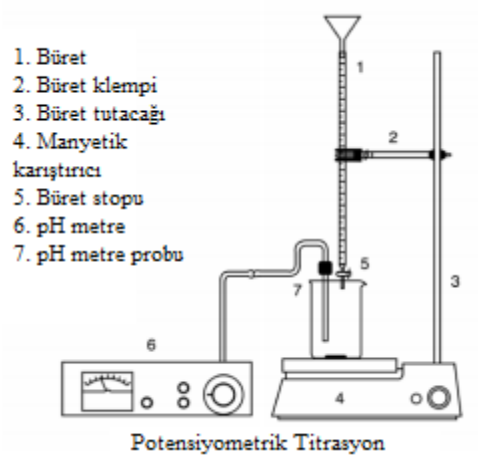
(Stomacher 400 Circulator, Seward Medical, Birleşik Krallık) 1 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Hazırlanan örnek homojenatından desimal dilüsyonlar hazırlanmış ve uygun dilüsyonlardan MRS agara mikraerofilik ortam oluşturmak için çift tabaka ekim yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 37 °C’de 72 saat inkübe edilmiştir ve koloni sayıları belirlenmiştir (Thamaraj and Shah, 2003; Matijević and Vinko, 2011; Chan et al., 2018). Örneklerde bulunan probiyotik bakteri sayıları log KOB/ml olarak hesaplanmıştır.

3.3.2 pH ölçümü

Çalışma boyunca, ön denemelerde, optimizasyon deneyleri süresince 8 saatte bir, elde edilen optimum koşullarla oluşturulan örneklerin ve kontrol örneklerinin fermentasyon süresi boyunca iki saatte bir ve 4°C’de 28 günlük depolama süresi boyunca yedi günde bir ürünlerin pH ölçümü yapılmıştır. Ölçümler Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı’nda bulunan pH (NEL Mod 821, Türkiye) metre ile ölçülmüştür (Degirmenci et al., 2012).

3.3.3 Titrasyon asitliği

Konsantre ve jel kıvamlı ürünlerin titre edilebilir asitliğini belirlemek diğer ürünlere göre tam homojenlik sağlanamadığı için zordur. Bu sebeple alınan örnekler CO₂ içermeyen su yardımıyla seyreltilmiştir (Tyl and Sadler, 2017). Titrasyon asitliği belirlenmesi için 10 ml örnek behere aktarılmış ve 1/2 oranında saf su ile seyreltilmiştir. Deney düzeneği Şekil 3.6’da gösterildiği gibi potansiyometrik ölçüm düzeneğine göre kurulmuş ve pH 8,1’e ulaşana kadar faktörü belirlenmiş 0,1 N NaOH ile titre edilmiştir ve sonuçlar g/L olarak laktik asit cinsinden Eşitlik 2 ile hesaplanmıştır (Angelov et al., 2006; Yoon et al., 2006; Mortazavian et al., 2010; Dorey et al., 2016).



Şekil 3.6. Potansiyometrik metod ile titrasyon asitliği ölçümü (Tyl ve Sadler, 2017)

$$\text{Asitlik (g/L)} = \frac{\text{Bazın normalitesi} \times \text{Harcanan miktar} \times \text{Kullanılan asidin ağırlığı}}{\text{Örnek hacmi} \times \text{Bazın faktörü}} \quad [2]$$

3.3.4 Toplam suda çözünür madde (°Brix) analizi

Hazırlanan ürünlerin °Brix değerlerinin ölçümü Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarında bulunan refraktometre ile yapılmıştır (Pimentel et al., 2015).

3.3.5 Toplam kuru madde analizi

Yulaf sütünde, üzüm sularında ve optimum koşullar ile hazırlanan örneklerde toplam kuru madde analizi AOAC (Association of Official Analytical Chemists) yöntemi ile yapılmıştır (AOAC, 2005; Bernat et al., 2015). Metal petrilere 105 °C'lik etüvde (Dedeoğlu, Türkiye) kurutulduktan sonra desikatörde soğutulmuş ve kuru tartımları alınmıştır. Tartımları alınan petrilere örnekler konulmuş ve tartımları alınmıştır. Petrilere 105 °C'lik etüvde örnekler sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Sabit tartımı tamamlanan örneklerin kuru madde miktarı örneğin son ağırlığının, ilk ağırlığına oranıyla % (w/w) cinsinden hesaplanmıştır.

3.3.6 Kül analizi

AOAC (Association of Official Analytical Chemists)'in belirlediği kül tayini yöntemi ile yapılmış olup, yanma işlemi sonrası örneğin ağırlığının örneğin ilk ağırlığına oranıyla kül yüzdesi hesaplanmıştır (AOAC, 2005). Porselen krozeler 550°C'lik kül fırınında bir süre bekletildikten sonra desikatöre alınmış ve soğuduktan sonra tartım alınmıştır. Tartımları tamamlanan krozelere örnekler eklenmiş ve örnekle beraber tekrar tartım alınmıştır. Tartımları tamamlanan örnekler ısıtıcılı manyetik karıştırıcı yardımıyla kaynatılmış ve ön yakma işlemi tamamlanmıştır. Ön yakma işlemi tamamlanan örnekler 550°C'lik kül fırınına (Laboratory Chamber Furnace-ELF, Carbolite Gero LTD., Birleşik Krallık) yerleştirilmiş ve kül rengi beyaz olana kadar örnekler yakılmıştır (Cemeroğlu, 2013). Kül renkleri beyaz olan örnekler kül fırınından çıkarılarak desikatöre alınmıştır. Desikatörde oda sıcaklığına ulaşan örnekler nem kapmaması için hızlı bir şekilde tartılmış ve krozelerin ilk ağırlığı ile karşılaştırılarak kül yüzdesi hesaplanmıştır.

3.3.7 β -glukan testi

β -glukan belirlenmesi için Megazyme markasına ait β -glukan Assay Kit (Mixed Linkage) kullanılmış olup, kit üreticisi tarafından belirtilmiş yöntem ile analiz yapılmıştır. Cam santrifüj tüpleri tartıldıktan sonra içerisine 3 ml örnek ilave edilmiştir. Örnekler daha sonra kaynayan su banyosunun içerisinde 5 dakika boyunca bekletilmiş ve oda sıcaklığına soğuması beklenmiştir. Oda sıcaklığına soğuyan örneklerin üzerine %95 oranında seyreltilmiş analitik saflıktaki etil alkol (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) eklenmiş ve vorteks ile örneğin karışması sağlanmıştır. Örneklerin üzerine 5 ml %95'lik etil alkol eklenmiş ve tekrar vortekslelendikten sonra, 1800 x g'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüjü tamamlanan örneklerin süpernatantı ayrılmış ve pelletin üzerine 8 ml %50 oranında seyreltilmiş analitik saflıktaki etil alkol (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) eklenmiştir. Alkol eklenen örnekler vorteksle karıştırılmış ve tekrar 1800 x g'de 10 dakika santrifüje tabi tutulmuştur. Santrifüjü tamamlanan örneklerin süpernatantı ayrılmıştır. Pellet kısmı sodyum fosfat tampon çözeltisi

(20 mM, pH 6.5) ile 4 ml'ye tamamlanmıştır ve vorteks ile bütün örneğin homojen olarak dağılması sağlanmıştır. Tampon çözeltisi eklenen örnekler 50°C'de 5 dakika bekletildikten sonra, tüplerin içerisine 0,2 ml liçenaz eklenmiş ve tüpler vortekslenmiştir. Vorteks edilen tüpler parafilm ile kapatılmış ve 50°C'de 1 saat bekletilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca 3-4 defa vorteks ile örneklerin karıştırılması sağlanmıştır. İnkübasyonu tamamlanan örneklerin üzerine 5 ml sodyum asetat çözeltisi (200 mM, pH 4.0) eklenmiş ve vortekslenmiştir. Karışımı sağlanan örnekler 5 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildikten sonra 1000 x g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Hazırlanan örneklerin süpernatantından 0,1 ml alınarak 3 test tüpüne aktarılmış, birinci tüpün içerisine 0,1 ml 50 mM sodyum asetat çözeltisi eklenmiş ve ikinci ve üçüncü tüpün içerisine ise 0,1 ml β -glukosidaz enzimi eklenmiştir. Ayrıca deneyin doğruluğunun sağlanabilmesi için D-glukoz (1 mg/ml) standardı kullanılmıştır. Reaktif şahit numune, örnek yerine saf su üzerine 0,1 ml 50 mM sodyum asetat çözeltisi ve standart numuneleri ise örnek yerine 0,1 ml D-glukoz (1 mg/ml) standardı eklenerek hazırlanmıştır. Hazırlanan tüm tüpler 50°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonu tamamlanan reaktif şahit, D-glukoz (1 mg/ml) standardı ve örneklerin üzerine 3 ml GOPOD reaktif enzimi eklenmiş ve 50°C'de 20 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonu tamamlanan örneklerin 510 nm dalga boyunda reaktif şahidine karşı absorbansları okutulmuştur. Elde edilen absorbans değerleri ile örnek içerisindeki β -glukan miktarı Eşitlik 3'te belirtildiği gibi hesaplanmıştır.

$$\beta - \text{glukan (g/100 ml)} = \Delta A \times F \times \frac{9.2}{3.0} \times 1000 \times \frac{1}{1000} \times \frac{1}{1000} \times \frac{162}{180} \times D \quad [3]$$

$$\beta - \text{glukan} \left(\frac{\text{g}}{100 \text{ ml}} \right) = \Delta A \times F \times D \times 0.00276 \quad [3]$$

ΔA : (β -glukosidaz eklenmiş örnek absorbansı) – (β -glukosidaz eklenmemiş örnek absorbansı)

F: 100 (μg D-glukoz) / 100 μg D-glukoz absorbansı

$\frac{9.2}{3.0}$: hacim doğrulama faktörü: başlangıçta kullanılan 3 ml örnek belirli işlemler sonucunda eklenen 0,2 ml liçenaz, 5 ml asetat tamponu ve 4 ml pellet çözündürülmüş fosfat tamponu ile oluşan son hacim (9,2 ml)

1000 : hacim ayarlama faktörü

$\frac{1}{1000}$: µg, mg çevirme

$\frac{1}{1000}$: mg, g çevirme

$\frac{162}{180}$: serbest D-glukoz, β-glukan içerisinde bulunan D-glukoz'a çevirme faktörü

D: β-glukosidaz örnekleri için dilüsyon (yapıldıysa)

3.3.8 Diyet lif analizi

Diyet lif içeriği analizi (Association of Official Analytical Chemists)'in belirlediği yöntem ile yapılmıştır (AOAC, 2005). Bu işlem için A&T Gıda Kontrol Laboratuvarı A.Ş.'den hizmet alımı yapılmıştır.

3.3.9 Protein analizi

Protein tayini Kjeldahl yöntemine göre yapılmıştır (Kjeldahl, 1883). İlk olarak protein analizinde kullanılacak %4'lük borik asit, 0,1 N HCl ve %40'luk NaOH çözeltileri hazırlanmıştır. Analiz için Kjelhdal tüplerine 1 g örnek tartılmış ve üzerine 8 g toz katalizör (selenyum içeren) eklenmiştir. Katalizörleri eklenmiş örnek ve kör tüplerine 13 ml %95-98 yoğunlukta sülfürik asit (H₂SO₄, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) eklenmiştir. Örnekler 250 °C'lik Kjelhdal cihazına yerleştirilmiştir. 1 saat beklenmiş ve cihazın sıcaklığı 350°C'ye ayarlanmıştır. 1 saat süresinin sonunda cihaz sıcaklığı 425°C dereceye ayarlanmış ve tüplerin içerisinde yeşil renk gözlemlendikten sonra 1,5-2 saat yakma işlemine devam edilmiştir. Yakma işlemi tamamlandıktan sonra tüpler soğutulmuş ve içerisine 50 ml saf su eklenmiştir. Distilasyon işleminde kullanılmak üzere 25 ml %4'lük borik asit çözeltisi 250 ml'lik erlenmayere eklenmiş ve yakma tüpüyle beraber distilasyon cihazına yerleştirilmiştir. Distilasyonu tamamlanan örnekler faktörü belirlenmiş olan 0,1 N HCl çözeltisi ile titre edilmiş ve pembe renk görülünce

titrasyona son verilmiştir. Harcanan sarfiyat miktarları Eşitlik 4'te yerleştirilmiş ve örnek içerisindeki azot miktarı %azot miktarı değeri olarak elde edilmiştir.

$$\%Azot\ miktarı = \frac{(\text{Örnek Sarfiyatı} - \text{Kör Sarfiyatı}) \times F \times 0,0014 \times 100}{\text{Örnek ağırlığı (g)}} \quad [4]$$

3.3.10 Yağ analizi

Toplam yağ analizi (Association of Official Analytical Chemists)'in belirlediği yöntem ile yapılmıştır (AOAC, 2005) (Şekil 3.7). Bu işleme göre yulaf ezmesi ev tipi parçalayıcı (Touchme, Türkiye) yardımıyla yüzey alanını arttırmak için çok ince olmayacak şekilde parçalanmıştır. 10 gr örnek kaba filtre kağıdı ile sarılmış ve daha sonra örnek kaybı olmaması için tülbent bezi ile sarılmıştır. Kaynatma balonları 105°C'lik etüvde (Dedeoğlu, Türkiye) kurutulmuştur. Kurutulduktan sonra kaynatma balonları desikatörde soğutulmuş ve daraları alınmıştır. Hazırlanan örnekler hazneye yerleştirilmiş ve üzerine hekzan eklenerek bir kez sifon yaptırılmıştır. Sifon tamamlanınca örnek haznesinin yarısına kadar hekzan doldurulmuş ve kaynatma balonu 85°C'lik su banyosuna (Electro-mag, İstanbul, Türkiye) yerleştirilmiştir. 5 saat sonunda örnekler alınmış ve döner buharlaştırıcıda (Rotary Evaporator, Heidolph Instruments GmbH ve CO. KG, Schwabach, Almanya) hekzanı uçurulmuş ve kalıntı içeren kaynatma balonları 105°C'lik etüvde (Dedeoğlu, Türkiye) kurutulmuştur. Kurutulduktan sonra kaynatma balonları desikatörde soğutulmuş ve kuru tartımları alınmıştır. Elde edilen ağırlıktan balonun darası çıkarılarak 10 g örnekte gram cinsinden yağ ağırlığı elde edilmiştir.



Şekil 3.7. Yağ analizinde kullanılan soksalet düzeneği

3.3.11 Toplam karbonhidrat analizi

Toplam karbonhidrat içeriği protein, yağ, kül ve nem tayininin toplamıyla bulunmuştur. Karbonhidratlar azot içermeyen ekstrakt ve diyet lifi olarak ikiye ayrılır. Diyet lifi içeren toplam karbonhidrat içeriği yüzdeliklerin toplamının yüzden çıkarılmasıyla bulunmuştur (AOAC, 2005).

3.3.12 Su tutma kapasitesi analizi

Fermantasyon sonunda ve depolama süresince 7. 14. 21. ve 28. günlerde, örneklerden 25 gram alınarak falcon tüplerine tartılmış ve 500 x g'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüjü tamamlanan örneklerin süpernatantı dikkatli bir şekilde pipet yardımıyla ayrılmış ve süpernatantların tartımı alınmıştır. Elde edilen süpernatantın ağırlığı, örneğin ilk ağırlığından çıkarılmış ve çıkan sonuçlar, örneğin ilk ağırlığına oranıyla % (w/w) cinsinden Eşitlik 5'te belirtildiği gibi hesaplanmıştır (Brückner-Gühmann et al., 2018).

$$\text{Su Tutma Kapasitesi (\% w/w)} = \frac{\text{Örneğin ilk ağırlığı} - \text{Süpernatantın ağırlığı}}{\text{Örneğin ilk ağırlığı}} \times 100 \quad [5]$$

3.3.13 Renk analizi

Yulaf sütü, üzüm suyu ve optimum koşullar ile oluşturulmuş örneklerin renk ölçümü Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü bünyesinde bulunan Hunter renk ölçüm cihazı (CFLX 45-2 Model Colorimeter, HunterLab, Reston, Virginia) ile yapılmıştır ve L*, a* ve b* değerleri belirlenmiştir (Urgu et al., 2017).

3.3.14 Resveratrol analizi

Resveratrol içeriği Ege Üniversitesi Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı bünyesinde hizmet alımı ile yapılmıştır. Örneklerde bulunan resveratrol içeriği HPLC cihazı ile ölçülmüştür (Geana et al., 2015).

3.3.15 Fenolik madde ve antioksidan aktivite analizi

Ürünlerde fenolik madde analizleri Alt başlık 3.2.3'te belirtildiği gibi Folin-Ciocalteu yöntemine göre, antioksidan analizleri Alt başlık 3.2.4'te belirtildiği gibi DPPH yöntemine göre uygulanmıştır. Fenolik madde analizleri için 1 ml örnek alınmış ve Alt başlık 3.2.3'teki yöntem ile fenolik madde analizi yapılmıştır. Antioksidan aktivite analizleri için 1 ml örnek alınmış ve 1:5 oranında metanol ile seyreltilerek Alt başlık 3.2.4'te verilen antioksidan aktivite analizi uygulanmıştır.

3.3.16 Duyusal analizler

Üretilen ürünlerde kullanılan Isabella (*Vitis labrusca* L.) üzümünün karakteristik bir tadı olduğundan yapılacak olan duyusal analizler için Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nün öğretim görevlisi ve lisansüstü öğrencilerinden oluşan 15 kişilik yarı-eğitilmiş panelist grubu ile duyusal testler gerçekleştirilmiştir. Ürünler tat, yabancı tat, asitlik, aroma, tekstür ve genel kabul edilebilirlik açısından 9'lu hedonik skala (9: en yüksek beğeni ve 1: en düşük beğeni) kullanılarak değerlendirilmiştir (Luckow and Delahunty, 2004; Luckow et al., 2006; Ranadheera et al., 2012; Raymond Eder and Rosa, 2019). Duyusal

deneyler optimizasyon koşullarını belirlemek amacıyla, optimize koşullar ile yapılan fermantasyon süresi sonunda ve 28 günlük depolama süresi boyunca yedi günde bir tekrarlanmıştır. Duyusal testlerde kullanılan duyusal test formu EK 1’de verilmiştir.

3.3.17 İstatistiksel analiz

Tüm deneyler 3 tekerrürlü ve 2 paralelli olarak yapılmış ve yapılan analizlerden elde edilmiş verilerin analizi; IBM SPSS Statistics 22 paket programı ile One Way Anova test yöntemi ile %95 güven aralığında ($P<0.05$) yapılmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Farklı Yöntemlerle Üretilmiş Üzüm Sularının Seçilen Probiyotik ve Patojen Bakteriler Üzerindeki Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

Dört farklı yöntemle hazırlanmış taze üzüm suyu (TÜS), pastörize edilmiş taze üzüm suyu (TÜSP), kaynatılmış üzüm suyu (KÜS) ve pastörize edilmiş kaynatılmış üzüm suyu (KÜSP) örneklerinin 5 farklı patojen ve 2 farklı probiyotik mikroorganizma için antimikrobiyal aktiviteleri broth mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Üzüm suyu örneklerinin MİK ve MBK değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir. Üzüm suyu örneklerinin MBK değerlerinin belirlenmesinde, MİK değerlerinde ve MİK değerlerinden daha yüksek konsantrasyonda antimikrobiyal madde içeren kuyucuklardan MHA besiyerine çizim yapılmış ve gelişme durumlarına göre MBK değerleri belirlenmiştir.

Tablo 4.1. Dört farklı yöntemle hazırlanmış üzüm suyu örnekleri için MİK ve MBK değerleri

Mikroorganizma	Örnekler*	Antimikrobiyal etki**			
		MİK Değeri		MBK Değeri	
		%	mg/ml	%	mg/ml
<i>S. Typhimurium</i>	TÜS	1,562	2,955	50	94,552
	TÜSP	1,562	2,970	50	95,054
	KÜS	3,125	7,301	***	-
	KÜSP	0,781	1,823	-	-
<i>B. cereus</i>	TÜS	1,562	2,955	-	-
	TÜSP	1,562	2,970	-	-
	KÜS	1,562	3,650	50	116,810
	KÜSP	0,781	1,823	50	116,703
<i>S. aureus</i>	TÜS	0,781	1,477	50	94,552
	TÜSP	0,781	1,485	50	95,054
	KÜS	3,125	7,301	50	116,810
	KÜSP	0,781	1,823	50	116,703
<i>E. coli</i>	TÜS	1,562	2,955	50	94,552

	TÜSP	1,562	2,970	50	95,054
	KÜS	3,125	7,301	50	116,810
	KÜSP	0,781	1,823	50	116,703
	TÜS	0,781	1,477	0,781	1,477
<i>Lis. monocytogenes</i>	TÜSP	0,781	1,485	0,781	1,485
	KÜS	0,781	1,825	0,781	1,825
	KÜSP	0,781	1,823	0,781	1,823
	TÜS	50	94,552	50	94,552
<i>L. acidophilus</i>	TÜSP	50	95,054	50	95,054
	KÜS	50	116,810	50	116,810
	KÜSP	50	116,703	50	116,703
	TÜS	50	94,552	50	94,552
<i>L. rhamnosus</i>	TÜSP	50	95,054	50	95,054
	KÜS	50	116,810	50	116,810
	KÜSP	50	116,703	50	116,703

* TÜS, taze üzüm suyu; TÜSP, pastörize edilmiş taze üzüm suyu; KÜS, kaynatılmış üzüm suyu; KÜSP, pastörize edilmiş kaynatılmış üzüm suyu.

** Tüm örnekler 2 paralel 3 tekrar olacak şekilde çalışılmış ve sonuçlar alınırken değerlerin ortalaması alınmıştır.

*** Test edilen konsantrasyonlarda MBK değeri tespit edilememiştir.

Bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçlarda kaynatılmış ve pastörize edilmiş Isabella üzüm suyunun deney süresince kullanılan *S. Typhimurium*, *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *Lis. monocytogenes* üzerinde %0,781 ile en düşük MİK değeri elde edilmiştir. Taze üzüm suyu, pastörize edilmiş taze üzüm suyu, kaynatılmış üzüm suyu ve pastörize edilmiş kaynatılmış üzüm suyu örnekleri *Lis. monocytogenes* üzerinde, taze üzüm suyu, pastörize edilmiş taze üzüm suyu ve pastörize edilmiş kaynatılmış üzüm suyu örnekleri *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal etkisinin yüksek olduğu tespit edilmiş olup, MİK değerleri %0,781 olarak bulunmuştur. *S. Typhimurium*, *B. cereus* ve *E. coli*, mikroorganizmaları için ise taze üzüm suyu ve pastörize edilmiş taze üzüm suyu örneklerinin MİK değerlerinin %1,562 olduğu saptanmıştır. Kaynatılmış üzüm suyu örneklerinin *S. Typhimurium* ve *E. coli* üzerinde daha düşük etkiye sahip olduğu görülmüş ve MİK değerleri %3,125 olarak belirlenmiştir. *B. cereus* için kaynatılmış üzüm suyunun MİK değerinin ise %1,562 olduğu saptanmıştır. Isabella üzümü patojen bakteriler üzerinde inhibe edici etki gösterirken, probiyotik bakterileri destekleyici

etki göstermektedir (Hervert-Hernández et al., 2009). Yapılan bu proje çalışmasında da test edilen tüm üzüm suyu örnekleri için *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 probiyotik kültürlerinin her ikisi için de MİK değerleri %50 olarak belirlenmiştir.

Proje kapsamında farklı yöntemlerle üretilmiş üzüm sularının test mikroorganizmaları üzerindeki MBK değerleri incelendiğinde, üzüm suyu örneklerinin tamamında için *S. aureus* ve *E. coli*'nin ilk kuyucuktan (%50) yapılan ekimlerde gelişim göstermediği gözlemlenmiştir. *S. Typhimurium* ile yapılan analizde taze üzüm suyu ve taze pastörize üzüm suyu için MBK değerlerinin %50 olduğu tespit edilmiştir. *B. cereus* ile yapılan analizde ise taze üzüm suyu ve pastörize taze üzüm suyu ile yapılan MBK ekimlerinde tüm kuyucuklar için gelişme göstermiş; kaynatılmış üzüm suyu ve kaynatılmış pastörize üzüm suyu için ise ilk kuyucukta üreme gözlemlenmemiş olup, MBK değerlerinin %50 olduğu belirlenmiştir. *Lis. monocytogenes* ise tüm üzüm suları için 7. kuyucuk da dahil gelişim göstermemiştir. Deney sürecine tabii tutulan *L. acidophilus* La-5 ve *L. rhamnosus* LGG suşları ise tüm üzüm suyu örnekleri için ilk kuyucuktan yapılan MBK denemelerinde üreme gözlemlenmemiş olup, MBK değerleri %50 olarak belirlenmiştir.

Üzüm ve üzüm ürünleri içerdiği yüksek fenolik maddeler nedeniyle insan sağlığına yararlı olmasının yanında antimikrobiyal özellikleriyle birçok sentetik antibiyotığe kıyasla daha fazla inhibe edici özellik de göstermektedir (Vodnar et al., 2017). Üzüm bağlarında her sene çeşitli hastalıklar ile verim düşüşü olmaktadır. Bu hastalıkların yaklaşık %25'i bakteri, küf ve maya kaynaklı olmakla birlikte Dünya çapında %10-30 oranında ürün kaybına sebep olmaktadır. Üzüm bağlarında en çok rastlanan küf türü ise *Botrytis cinerea*'dır. *Botrytis cinerea*, üzümler için en tehlikeli parazitik bir küftür ve üzümlerde çürümeye sebep olmaktadır. Bu hastalıkları önlemek için birçok kimyasal ilaç kullanılmaktadır, fakat insan sağlığına zarar vermeyen farklı yöntemlere ihtiyaç bulunmaktadır. Isabella üzümünün salgıladığı uçucu bileşenlerin *B. cinerea* üzerine etkisi araştırılmış ve *B. cinerea* kaynaklı hastalıkların önüne geçtiği keşfedilmiştir (Kulakiotu et al., 2004). Vodnar et al. (2017) tarafından yapılan

çalışmada gıda fabrikası atıklarından elde edilen Isabella üzümünü atıklarını işlem görmeden ve ısıtma işlemi uygulanarak deneye tabi tutmuşlardır. Elde edilen ısıtma işlemi uygulanmış ve ısıtma işlemi uygulanmamış üzüm örneklerinin *S. aureus*, *B. cereus*, *Lis. monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. Typhimurium*, *E. coli*, *Fusobacterium nucleatum* ve *Peptostreptococcus anaerobius* kültürlerinde oluşturduğu antimikrobiyal etki incelenmiştir. Yapılan çalışmada işlem görmemiş üzüm suyu örneklerinde *S. aureus*, *Lis. monocytogenes*, *E. coli* kültürlerinde düşük (1,953 mg/ml) konsantrasyonlarda bile etki gösterdiği, ısıtma işlemi uygulaması ile MİK değerlerinin değişmediği saptanmıştır. *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *S. Typhimurium* kültürleri için MİK değerlerinin işlem görmemiş üzüm suyu için 7,81 mg/ml, ısıtma işlemi görmüş örneklerde ise 3,9 mg/ml düzeyine düştüğü belirlenmiştir. *E. faecalis*, *F. nucleatum*, *P. anaerobius* kültürleri için ısıtma işlemi uygulanmamış örneklerde MİK değerleri 15,62 mg/ml iken, ısıtma işlemi sonrasında MİK değeri yarıya düşmüştür.

Gündüz et al. (2019) tarafından yapılan araştırmada, Samsun ilinden temin edilen geleneksel yöntemle hazırlanmış Isabella üzüm suyunun ve süpernatantının *S. aureus*, *E. coli*, *S. Typhimurium*, *B. cereus*, *L. acidophilus* La-5, *L. rhamnosus* LGG ve *Saccharomyces cerevisiae* için MİK değerleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda *S. Typhimurium* ve *B. cereus* kültürleri için MİK değerinin 18,75 mg/ml; *E. coli* ve *S. aureus* kültürleri için ise MİK değerinin 37,5 mg/ml olduğu gözlemlenmiştir. Üzüm suyu süpernatantı ile yapılan inhibisyon testinde *S. Typhimurium* kültürünün MİK değerinin 8,75 mg/ml, *E. coli* ve *B. cereus* kültürleri için MİK değerinin 17,5 mg/ml, *S. aureus* kültürü için ise MİK değerinin 35 mg/ml olduğu belirlenmiştir. Her iki üzüm suyu örneklerinin diğer kültürler üzerinde inhibisyon etkisi gözlemlenmemiştir. Yapılan araştırmada kullanılan üzüm suyu geleneksel yöntemlerle kontrollü olmayan koşullarda hazırlanmıştır. Elde edilen üzüm sularının kontrolsüz olarak ısıya maruz bırakılması ürün içerisinde fenolik maddeler gibi antimikrobiyal madde içeriklerin kaybolmasına neden olduğu için MİK değerleri düşük çıkmıştır. Ayrıca üzümlerin toplanma zamanının ve iklimsel koşullardan kaynaklanan antimikrobiyal madde içeriği farklılıkları üzüm suyunun MİK değerini değiştirebilmektedir. Proje kapsamında yapılan çalışmada kullanılan üzüm suları laboratuvar ortamı

koşullarında kontrollü olarak üretilmiş ve geleneksel olarak üretilen üzüm suyundan farklı yıllarda hasat edilen üzümler ile hazırlanmıştır.

Gündüz et al. (2019) tarafından yapılan araştırmada, iki farklı üzüm suyu uygulamasının sonucunda kullanılan mikroorganizmalar (*S. aureus*, *E. coli*, *S. Typhimurium*, *B. cereus*, *L. acidophilus* La-5, *L. rhamnosus* LGG ve *S. cerevisiae*) üzerinde MBK değerlerinin saptanamadığı rapor edilmiştir. Vodnar et al., (2017) tarafından yapılan çalışmada ise, kullanılan tüm patojen mikroorganizmalar (*S. aureus*, *B. cereus*, *Lis. monocytogenes*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *S. Typhimurium*, *E. coli*, *F. nucleatum* ve *P. anaerobius*) için MBK değerlerinin belirlenen MİK değerlerinin iki katı seviyede olduğu gözlemlenmiştir.

Martin et al. (2012) tarafından yapılan bir araştırmada Isabella üzümü suyunun *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* kültürleri üzerinde antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Elde edilen inhibisyon zonu boyutları *B. subtilis* için 1,12 mm/mg, *S. aureus* için 1,50 mm/mg, *P. aeruginosa* için 1,40 mm/mg ve *E. coli* için ise 1,23 mm/mg olduğu belirtilmiştir.

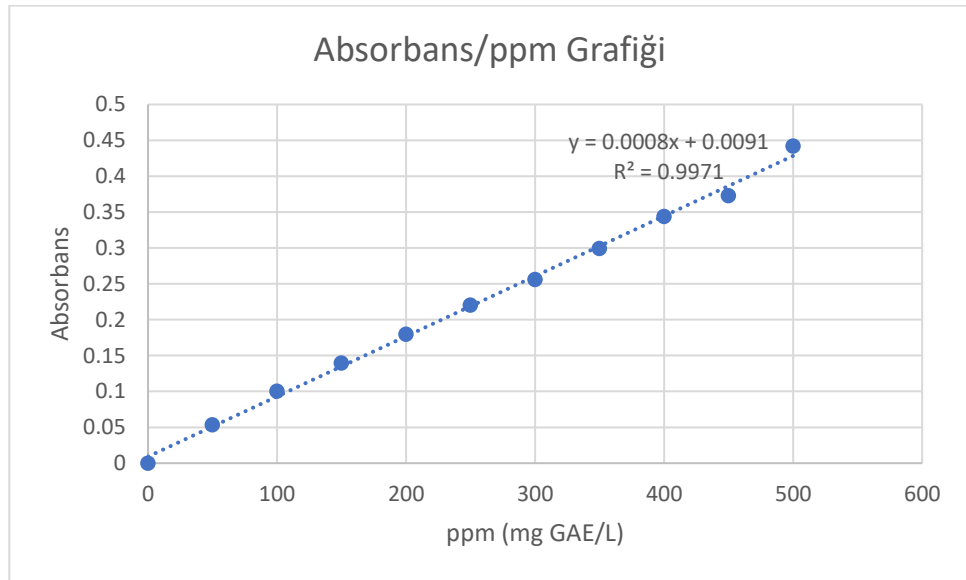
4.2 Farklı Yöntemlerle Üretilmiş Üzüm Sularının Fenolik Madde Miktarları

Üzüm ve üzüm bazlı ürünlerinin yüksek polifenol içeriği sayesinde çoğu kronik hastalığa iyi gelmektedir. Fenolikler, bitkilerin stres koşulları altında ürettiği ikincil metabolitlerdir (Cazarin et al., 2013; da Silva et al., 2015). Dört farklı yöntemle hazırlanan üzüm suyu örneklerinde fenolik madde içeriği tespit edilmiştir. Yapılan fenolik madde analizlerinde fenolik madde içeriği gallik asit cinsinden hesaplanmıştır. Hesaplamanın yapılabilmesi için öncelikle farklı konsantrasyonlarında gallik asit eğrisi oluşturulmuştur (Cemeroğlu, 2013). Oluşturulan farklı gallik asit konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerlerinin ortalaması Tablo 4.2’de gösterilmiş ve bu sonuçlar ile oluşturulan absorbans/ppm (mg GAE/L) eğrisi grafiği ise Şekil 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Gallik asit eğrisi için oluşturulan farklı konsantrasyonların absorbans değerleri

Gallik asit konsantrasyonu (ppm)	Absorbans değeri*
0	0,0091
50	0,0535
100	0,1001
150	0,1395
200	0,1796
250	0,2203
300	0,2560
350	0,2992
400	0,3436
450	0,3728
500	0,4417

* Sonuçlar iki tekrarın ortalaması olarak verilmiştir.



Şekil 4.1. Gallik asit konsantrasyon eğrisi

Yapılan analizlerden elde edilen sonuçlarda, üzüm suyu örneklerinin fenolik madde içeriği belirlenen absorbans değerlerinin absorbans/ppm eğrisinde elde edilen denklemle hesaplanmıştır (Eşitlik 6). Yapılan analiz sonucunda örneklerin absorbans değerleri ve bu değerlere karşılık gelen fenolik madde miktarları Tablo 4.3'te verilmiştir. Absorbans değerlerinin Eşitlik 6 yardımıyla gallik asit eşdeğerinde fenolik madde miktarı bulunmuştur.

$$\text{Fenolik Madde Miktarı} = \frac{(\text{Absorbans Değeri} - 0,0091)}{0,0008} \quad [6]$$

Tablo 4.3. Üzüm suyu örneklerinin ölçülen absorbans değerleri ve gallik asit cinsinden fenolik madde miktarları

Örnek	Absorbans Değeri	Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/L)*
Taze Üzüm Suyu	0,0433 (0,0076)	642,91 (163,97) ^c
Pastörize Taze Üzüm Suyu	0,0648 (0,0044)	1044,79 (95,80) ^b
Kaynatılmış Üzüm Suyu	0,1869 (0,0033)	3333,95 (70,67) ^a
Pastörize Kaynatılmış Üzüm Suyu	0,1864 (0,0054)	3324,68 (116,23) ^a

* Aynı sütun içerisinde farklı küçük harfler istatistiksel açıdan anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir

Ölçülen absorbans değerlerine bağlı olarak örnekler içerisindeki fenolik madde miktarı gallik asit cinsinden seyreltme faktörü göz önünde bulundurularak, mg GAE/L cinsinden hesaplanmıştır. Kaynatılmış üzüm suyu ve kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyunun fenolik madde miktarları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (P>0,05). Yapılan çalışmada, üzüm suyu örneklerine ısısal işlemler uygulandığında, kabukta yoğun miktarda bulunan fenolik maddelerin üzüm suyuna geçtiği ve örneklerin fenolik içeriğinin arttığı görülmüştür. Elde edilen deney sonuçlarında ısıl işlemler arttıkça örnek içerisinde bulunan fenolik madde miktarının anlamlı derecede arttığı saptanmıştır. Bu çalışma kapsamında elde edilen bulgulara benzer olarak, Vodnar et al. (2017) tarafından yapılan bir araştırmada taze ve ısıl işlem uygulanmış Isabella üzüm

kabuklarının fenolik içerikleri karşılaştırılmış ve ısıl işlem görmüş Isabella üzümünün $1990 \pm 52,9$ mg GAE/100 g kuru ağırlık ile en yüksek fenolik içeriğe sahip örnek olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonucunda, ısıl işlem uygulandıkça fenolik madde miktarının artışı ısı ile fenolik maddelerin kaybına neden olan enzimlerin inaktive olmasıyla açıklanmıştır. Ayrıca fenolik maddelerin sentezlenmesinde görev alan fenilalanin amonyak liyaz gibi enzimlerin ısı ile artması sonucu ürünlerde bulunan fenolik maddelerin artabileceği belirtilmiştir. Fazla ısıl işlem uygulanması durumunda ise fenolik maddelerde termal bozulma oluşabilir, fenolik madde üretiminde kullanılan lignin gibi maddeler bozulabilir veya bağlı fenolik bileşikler serbest kalabilmektedir. Bu sebeple bazı gıdalarda termal işlem uygulanması veya fazla ısıya maruz bırakılması fenolik maddelerde kayba yol açabilmektedir.

Isabella üzümü ile yapılan diğer bir çalışmada, Brezilya'nın Pernambuco eyaletinden toplanan Isabella üzümünden $75-85^{\circ}\text{C}$ 'de 60 dakika boyunca buhar ekstraksiyonu yardımı ile üretilmiş üzüm sularında fenolik madde içeriğinin $74,86 \pm 4,25$ mg GAE/100 mL olduğu bulunmuştur (da Silva et al., 2015). Yapılan bir araştırmada mart ve eylül aylarında hasat edilen Isabella üzümü aynı koşullarda buhar ekstraksiyonu ile üzüm suyu haline getirilmiş ve fenolik madde miktarındaki değişim gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda eylül ayında toplanan üzüm ile elde edilen üzüm suyunda $102,2 \pm 1,59$ mg GAE/100 mL fenolik madde miktarı içerdiği görülürken, mart ayında toplanan üzüm ile yapılan üzüm suyunda fenolik madde miktarının $82,9 \pm 0,92$ mg GAE/100 mL olduğu gözlemlenmiştir. Isabella üzümü Pernambuco gibi yarı kurak tropikal iklime adaptasyon göstermiş olsa da üzüm sularında bulunan fenolik madde miktarındaki değişiminin bölge koşulları, yıl boyu sıcaklık etkisi, sulama, güneşe maruz kalma, hasat zamanı ve toprak kalitesi gibi etkenlere bağlı olarak değişebilmektedir (Cazarin et al., 2013).

Yapılan bir diğer çalışmada ise Ordu, Giresun, Trabzon, Rize ve Artvin illerinde bulunan 11 farklı şarap evinden toplanmış Isabella üzümünün toplam fenolik madde içeriği sonuçları $474,2 \pm 7,2$ mg GAE/100 g taze meyve ağırlığı olarak bulunmuştur. Aynı zamanda, Isabella üzümünün olgunlaşma süreci devam

ettikçe içeriğinde bulunan fenolik madde miktarının da arttığı gözlemlenmiş olup, eylül ortasından başlanarak ekim ortasına (263-293. gün) kadar toplanan üzümlerin fenolik maddeler açısından daha zengin olduğu tespit edilmiştir (Kurt-Çelebi et al., 2020).

Giresun ilinden toplanan Isabella üzümleriyle yapılan başka bir çalışmada üzümler kasım ayında toplanmış ve laboratuvar ortamında sirke yapılmıştır. Isabella üzümü ile yapılan sirkelerin fenolik madde miktarının $160,23 \pm 0,007$ mg GAE/100 g olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan benzer çalışmalar ile kıyaslandığında daha yüksek fenolik madde içeriği gösteren Isabella üzüm sirkesinin farklı coğrafi konumlarda kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Aydın and Gökışık, 2019).

Gollücke et al. (2009) tarafından yapılan araştırmada Isabella üzümünden üretilen üzüm suyunun fenolik madde içeriğinin 1756,8-1428,9 mg GAE/L aralığında değişebileceği belirtilmiştir. Kavgacı (2019) tarafından yapılan çalışmada Eynesil, Trabzon ve Tirebolu'dan eylül ayında toplanan Isabella üzümü ile hazırlanan üzüm suyunun fenolik madde miktarı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre pulp kısmında fenolik madde miktarı $251,6 \pm 6,50$ mg GAE/100 g ile $479,6 \pm 5,80$ mg GAE/100 g arasında değiştiği; çekirdek kısmında fenolik madde içeriğinin ise $2014 \pm 7,3$ mg GAE/100 g ile $2392 \pm 1,29$ mg GAE/100 g arasında değiştiği saptanmıştır. Çalışma süresince kullanılan üzümlerin farklı yerlerden toplanması ile üzümlerin fenolik madde içeriklerinin değişebileceği belirtilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmada üzümlerin farklı kısımlarının fenolik içeriğinin değiştiği görülmüş, üzüm çekirdeklerinin pulptan daha yüksek fenolik madde içerdiği belirtilmiştir.

4.3 Farklı Yöntemlerle Üretilmiş Üzüm Sularının Antioksidan Aktivite Analizi

Dört farklı yöntemlerle hazırlanmış üzüm sularının (taze üzüm suyu, pastörize edilmiş taze üzüm suyu, kaynatılmış üzüm suyu ve pastörize edilmiş kaynatılmış üzüm suyu) antioksidan aktivite değerleri Tablo 4.4'te verilmiştir.

Isısal işleme tabi tutulan üzüm suyu örneklerinde kabuktaki antioksidan maddelerin daha fazla suya geçtiği gözlemlenmiş olup, ısısal işlem uygulanmış ve uygulanmamış örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark olduğu belirlenmiştir. Kaynatılarak üretilen Isabella üzüm suyu örneklerinin antioksidan aktivitesi yüksek bir ürün olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.4. Üzüm suyu örneklerinin DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite yüzdeleri

Örnek	Antioksidan Aktivite (%) [*]
Taze Üzüm Suyu	30,09 (4,76) ^c
Pastörize Taze Üzüm Suyu	68,12 (4,55) ^b
Kaynatılmış Üzüm Suyu	90,24 (1,08) ^a
Pastörize Kaynatılmış Üzüm Suyu	89,96 (0,50) ^a

^{*}Aynı sütun içerisinde farklı küçük harfler istatistiksel açıdan anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir

Bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçlara benzer olarak, Vodnar et al. (2017) tarafında yapılan bir araştırmada meyve suyu firmasından toplanan Isabella üzümü atıklarına ısısal işlem uygulandığında antioksidan aktivitesinin %58,37 oranında artışı gözlemlenmiştir. Cazarin et al. (2013) yaptığı araştırmada Brezilya'nın Pernambuco Eyaleti'nden mart ve eylül aylarında toplanan Isabella üzümlerinden üzüm suyu hazırlanmış ve antioksidan aktivitesi kontrol edilmiştir. Her iki mevsimde toplanan üzüm sularının %100 aktivite gösterdiği saptanmıştır. Pacifico et al. (2011) tarafından yapılan araştırmada 2008 yılında Garzano, İtalya'da toplanan Isabella üzümünün kabuğu, pulpu, çekirdeği, sap ve yaprakları metanolle ekstrakte edilmiş ve elde edilen ekstraktlardan 2,5, 5,0, 15,0, 50,0 ve 75,0 µg/mL konsantrasyonlarını oluşturarak antioksidan aktivite analizi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda kabuk ve pulp için konsantrasyon yükseldikçe antioksidan aktivitesinin arttığı, çekirdek ve sap için ise 15,0 µg/mL değerinden sonra antioksidan aktivitenin %90'ın üzerinde olduğu ve değişmediği gözlemlenmiş, yaprak ekstraktı için ise 50,0 µg/mL değerine kadar aktivite

değerinde artış gözlenirken, belirtilen konsantrasyon değerinden sonra düşüş olmuştur.

Aydın and Demir-Gökışık (2019) tarafından yapılan araştırmada, Isabella üzümüyle üzüm sirkesi hazırlanmış ve elde edilen sirke metanol ile farklı konsantrasyonlar oluşturularak antioksidan aktivite analizine tabi tutulmuştur. 50-200 µg/mL konsantrasyonunda elde edilen antioksidan aktivite değerleri %83,66-95,81 aralığında değişmektedir.

4.4 Probiyotik Ürün Üretiminde Kullanılacak Üzüm Suyunun Seçilmesi

Dört farklı yöntemle üretilmiş üzüm suları için yapılan MİK testleri, fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite analizleri sonuçları değerlendirilmiştir (Tablo 4.5). Proje kapsamında oluşturulacak ürünlerde kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyunun deney sürecine dahil edilmesi kararlaştırılmıştır. Farklı yöntemlerle üretilmiş üzüm sularının antimikrobiyal aktivitesini belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda, kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyunun patojen bakterilerin gelişimini çok düşük konsantrasyonlarda inhibe ederken, probiyotik bakteriler üzerindeki MİK değerinin yüksek olduğu (%50) tespit edilmiştir. Aynı zamanda, fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin taze üzüm suyu ve pastörize taze üzüm suyu örneklerinden daha fazla olması ($P<0,05$) ve kaynatılmış üzüm suyu ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan fark olmaması ($P>0,05$) sebebiyle kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyu denemelerde kullanılmak üzere seçilmiştir.

Tablo 4.5. Üzüm suyu üretim yönteminin belirlenmesi için yapılan MİK testleri, fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite analiz sonuçları

Örnek	Test Kültürleri	MİK Değeri (%)	Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/L)*,**	Antioksidan Aktivite (%)*,**
Taze Üzüm Suyu	<i>S. Typhimurium</i> ,	1,562	642,91 (163,97) ^a	30,09 (4,76) ^a
	<i>B. cereus</i> ,	1,562		
	<i>S. aureus</i> ,	0,781		
	<i>E. coli</i> ,	1,562		
	<i>Lis. monocytogenes</i>	0,781		
	<i>L. acidophilus</i>	50		
	<i>L. rhamnosus</i>	50		
	<i>S. Typhimurium</i> ,	1,562		
Pastörize Taze Üzüm Suyu	<i>B. cereus</i> ,	1,562	1044,79 (95,80) ^b	68,12 (4,55) ^b
	<i>S. aureus</i> ,	0,781		
	<i>E. coli</i> ,	1,562		
	<i>Lis. monocytogenes</i>	0,781		
	<i>L. acidophilus</i>	50		
	<i>L. rhamnosus</i>	50		
	<i>S. Typhimurium</i> ,	3,125		
	<i>B. cereus</i> ,	1,562		
Kaynatılmış Üzüm Suyu	<i>S. aureus</i> ,	3,125	3333,95 (70,67) ^c	90,24 (1,08) ^c
	<i>E. coli</i> ,	3,125		
	<i>Lis. monocytogenes</i>	0,781		
	<i>L. acidophilus</i>	50		
	<i>L. rhamnosus</i>	50		
	<i>S. Typhimurium</i> ,	0,781		
	<i>B. cereus</i> ,	0,781		
	<i>S. aureus</i> ,	0,781		
Pastörize Kaynatılmış Üzüm Suyu	<i>E. coli</i> ,	0,781	3324,68 (116,23) ^c	89,96 (0,50) ^c
	<i>Lis. monocytogenes</i>	0,781		
	<i>L. acidophilus</i>	50		
	<i>L. rhamnosus</i>	50		

* Fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite analizinde elde edilen sonuçlarda standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

** Aynı sütun içerisinde farklı küçük harfler istatistiksel açıdan anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

4.5 Liyofilize Kùltürlerdeki Probiyotik Suşların Sayılarının Belirlenmesi

Chr. Hansen A/S, Denmark firmasından alınan *Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Lactobacillus rhamnosus* GG suşları liyofilize kùltür olarak tedarik edilmiştir. Temin edilen liyofilize kùltürlerin canlılık seviyeleri incelenmiş ve *Lactobacillus acidophilus* La-5 için 10,44 log KOB/g, *Lactobacillus rhamnosus* LGG suşu için ise 11,02 log KOB/g olduğu saptanmıştır.

4.6 Probiyotik Ürünler İçin Fermantasyon Süresinin Belirlenmesi

4.6.1 *L. rhamnosus* LGG içeren probiyotik ürünler için ön deneme ve fermantasyon süresinin belirlenmesi

4.6.1.1 *L. rhamnosus* LGG içeren probiyotik ürünler için ön deneme sonuçları

L. rhamnosus LGG suşu kullanılarak yapılan ön denemelerde inülinin etkisi araştırılmıştır. Bu kapsamda, hazırlanan 90 g'lık yulaf sütünün (%8, w/v) içerisine 10 ml üzüm suyu ve %1 (w/w) inülin eklenmiştir. Ayrıca yulaf sütü ile karşılaştırılabilmesi için kontrol grubu olarak keçi sütü kullanmıştır. 60 günlük depolama süresi boyunca elde edilen veriler Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Yapılan çalışmada yulaf sütünün tek başına içeriğinin *L. rhamnosus* LGG için yeterli olmadığı ve depolamanın 7. gününden itibaren probiyotik özelliğini kaybettiği tespit edilmiştir. Yulaf sütüne %10 oranında üzüm suyu eklendiğinde ise probiyotik özelliğın depolamanın 60. gününe kadar devam ettiği saptanmıştır. Keçi sütünde ise depolama süresince probiyotik özelliğın devam ettiği, üzüm suyu ilave edilen örneklerde ise probiyotik sayılarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Üzüm suyunda ise probiyotik sayısının 7. günden önce istenen seviyenin altına düştüğü belirlenmiştir. Üzüm suyunun *L. rhamnosus* LGG için MBK değerleri %50 olduğu için %100 üzüm suyunda, probiyotik bakteri canlılığını sürdürememiş ve 21. günde sayıları belirleme limitinin altına düşmüştür.

Tablo 4.6. *L. rhamnosus* LGG şusu ile hazırlanan örneklerin 60 günlük depolama süresince elde edilen probiyotik bakteri sayıları

Örnekler	<i>L. rhamnosus</i> LGG Sayıları (log KOB/ml)							
	Depolama Süresi (gün)							
	1. gün	7. gün	14. gün	21. gün	28. gün	35. gün	42. gün	60. gün
90 g yulaf sütü + 10 ml üzüm suyu	7,41	7,84	8,11	7,86	8,73	8,49	8,26	6,32
90 g yulaf sütü + 10 ml üzüm suyu + inulin	7,26	8,18	8,18	8,38	9,00	8,59	8,40	6,93
100 g yulaf sütü	7,41	6,23	5,23	4,99	3,80	4,18	3,87	2,18
100 ml keçi sütü	8,08	8,40	7,70	8,61	8,63	8,00	8,00	6,87
90 ml keçi sütü + 10 ml üzüm suyu	8,40	8,52	8,34	9,26	8,88	8,08	7,62	7,23
100 ml üzüm suyu	6,79	5,91	3,48	_*	_*	_*	_*	_*

* Belirleme limitinin altında (<1 KOB/ml) bulunmuştur.

4.6.1.2 *L. rhamnosus* LGG içeren probiyotik ürünler için fermantasyon süresinin belirlenmesi

L. rhamnosus LGG içeren probiyotik ürünler için optimum fermantasyon süresinin belirlenmesi için 37°C’de fermantasyonun başında ve 48 saatlik fermantasyon süresince 8 saatte bir *L. rhamnosus* LGG sayıları ve pH değerleri belirlenmiştir. Design Expert 7.0.0 programı kullanılarak Box-Behnken Metodu ile oluşturulan deneme desenine göre analizler yapılmıştır. Optimizasyon deseni ile öncelikle optimum fermantasyon süresi belirlenmiştir. Yapılan optimizasyon değerlendirmesi sonucunda *L. rhamnosus* LGG için 24 saat fermantasyon süresinin optimum koşulları sağladığı gözlemlenmiştir. Elde edilen fermantasyon koşullarına uygun olarak elde edilen probiyotik sayımı ve pH göre üretimde kullanılacak optimum koşul belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.7’de gösterilmiş ve takip eden Alt başlıklarda değerlendirilmiştir.

Tablo 4.7. Box-Behnken Metodu ile oluşturulan deneme deseni ile yapılan çalışmada 8 saatte bir alınan örneklerin pH değerleri ve *L. rhamnosus* LGG sayıları

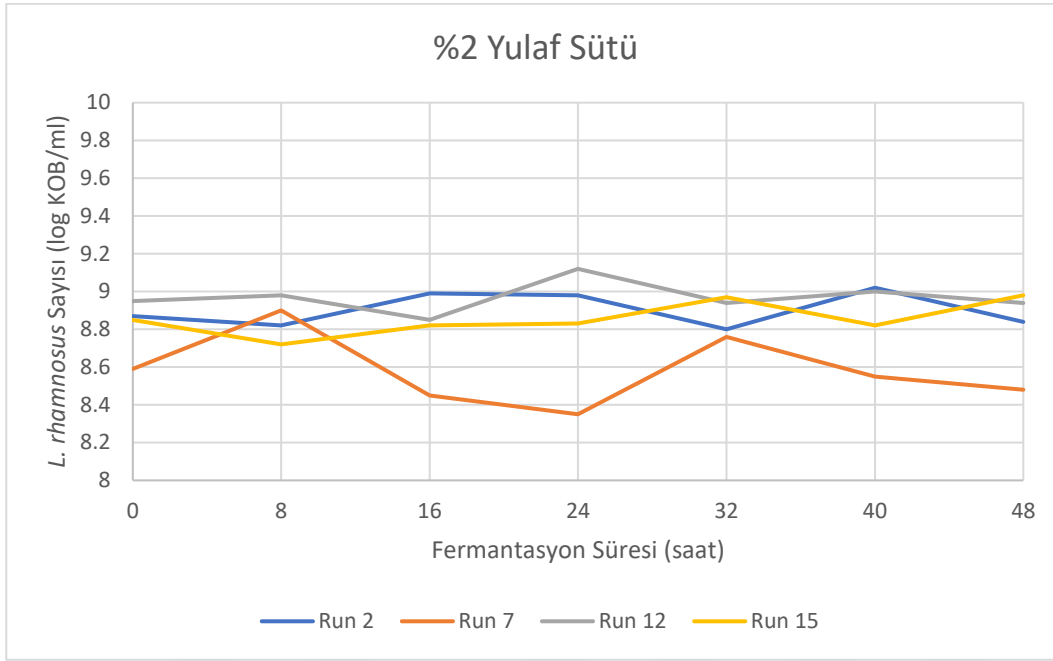
Run	Fermantasyon süresi	pH	<i>L. rhamnosus</i> LGG Sayısı (log KOB/ml)
Run 1	0. saat	5,13	8,65
%6 yulaf sütü	8. saat	4,39	8,34
%5 üzüm suyu	16. saat	4,11	8,95
%1,7 inülin	24. saat	3,86	8,68
	32. saat	3,73	8,46
	40. saat	3,70	8,41
	48. saat	3,66	8,81
Run 2	0. saat	4,15	8,87
%2 yulaf sütü	8. saat	3,68	8,82
%5 üzüm suyu	16. saat	3,54	8,99
%0,85 inülin	24. saat	3,48	8,98
	32. saat	3,44	8,80
	40. saat	3,42	9,02
	48. saat	3,41	8,84
Run 3	0. saat	4,21	8,79
%6 yulaf sütü	8. saat	3,76	8,84
%15 üzüm suyu	16. saat	3,62	9,01
%0,85 inülin	24. saat	3,59	8,81
	32. saat	3,55	8,79
	40. saat	3,49	9,01
	48. saat	3,47	8,91
Run 4	0, saat	4,32	8,45
%10 yulaf sütü	8. saat	4,21	8,73
%25 üzüm suyu	16. saat	3,81	8,78
%0,85 inülin	24. saat	3,75	9,25
	32. saat	3,69	8,85
	40. saat	3,69	8,56
	48. saat	3,57	8,88

Run 5	0. saat	4,44	8,75
%10 yulaf sütü	8. saat	4,35	8,74
%15 üzüm suyu	16. saat	3,79	8,88
%1,7 inülin	24. saat	3,74	8,75
	32. saat	3,74	8,78
	40. saat	3,65	8,81
	48. saat	3,59	8,82
Run 6	0. saat	4,47	8,68
%10 yulaf sütü	8. saat	4,43	8,24
%15 üzüm suyu	16. saat	3,83	8,56
%0 inülin	24. saat	3,73	8,64
	32. saat	3,76	8,53
	40. saat	3,67	8,57
	48. saat	3,60	8,58
Run 7	0. saat	4,06	8,59
%2 yulaf sütü	8. saat	3,65	8,90
%15 üzüm suyu	16. saat	3,68	8,45
%0 inülin	24. saat	3,54	8,35
	32. saat	3,40	8,76
	40. saat	3,46	8,55
	48. saat	3,47	8,48
Run 8	0. saat	4,70	9,60
%6 yulaf sütü	8. saat	4,12	8,59
%15 üzüm suyu	16. saat	4,25	8,88
%0,85 inülin	24. saat	3,89	8,69
	32. saat	3,77	8,37
	40. saat	3,76	8,21
	48. saat	3,69	8,58
Run 9	0. saat	4,72	8,92
%6 yulaf sütü	8. saat	4,14	8,03
%15 üzüm suyu	16. saat	4,26	8,81
%0,85 inülin	24. saat	4,03	9,32
	32. saat	3,83	8,73
	40. saat	3,81	8,69
	48. saat	3,74	8,79

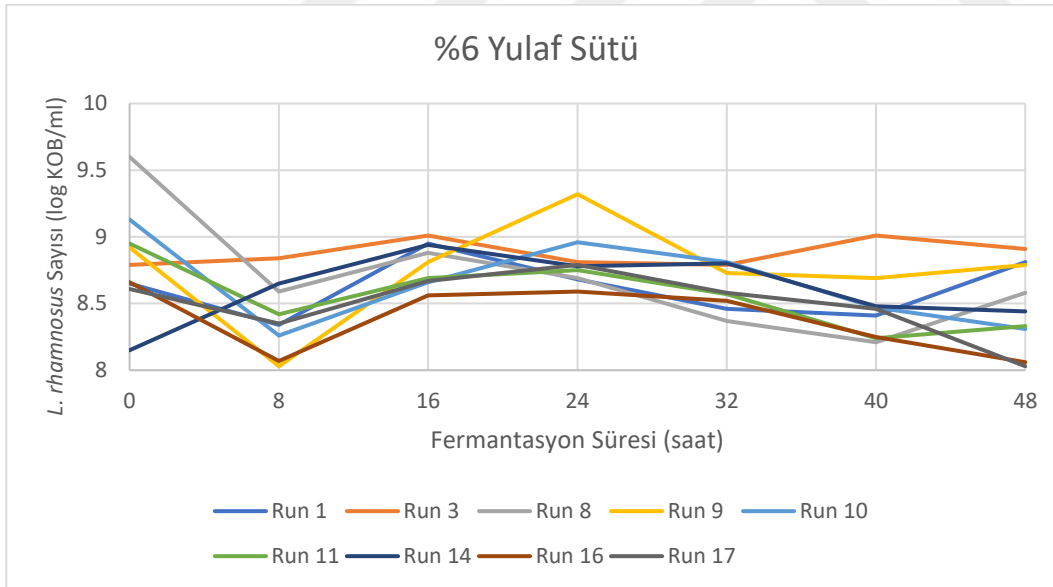
Run 10	0. saat	4,87	9,13
%6 yulaf sütü	8. saat	4,09	8,26
%5 üzüm suyu	16. saat	4,57	8,66
%0 inülin	24. saat	3,89	8,96
	32. saat	3,79	8,81
	40. saat	3,73	8,47
	48. saat	3,68	8,31
Run 11	0. saat	4,59	8,95
%6 yulaf sütü	8. saat	4,09	8,42
%15 üzüm suyu	16. saat	4,20	8,69
%0,85 inülin	24. saat	3,93	8,75
	32. saat	3,76	8,57
	40. saat	3,77	8,24
	48. saat	3,75	8,33
Run 12	0. saat	3,88	8,95
%2 yulaf sütü	8. saat	3,67	8,98
%15 üzüm suyu	16. saat	3,61	8,85
%1,7 inülin	24. saat	3,54	9,12
	32. saat	3,49	8,94
	40. saat	3,58	9,00
	48. saat	3,43	8,94
Run 13	0. saat	5,13	8,59
%10 yulaf sütü	8. saat	4,40	8,89
%5 üzüm suyu	16. saat	3,77	8,81
%0,85 inülin	24. saat	3,69	8,52
	32. saat	3,61	8,64
	40. saat	3,60	8,44
	48. saat	3,53	8,77
Run 14	0. saat	4,53	8,15
%6 yulaf sütü	8. saat	4,11	8,65
%25 üzüm suyu	16. saat	4,01	8,94
%0 inülin	24. saat	3,91	8,78
	32. saat	3,79	8,80
	40. saat	3,76	8,48
	48. saat	3,70	8,44

Run 15	0. saat	3,82	8,85
%2 yulaf sütü	8. saat	3,80	8,72
%25 üzüm suyu	16. saat	3,67	8,82
%0,85 inülin	24. saat	3,64	8,83
	32. saat	3,59	8,97
	40. saat	3,65	8,82
	48. saat	3,55	8,98
Run 16	0. saat	4,61	8,66
%6 yulaf sütü	8. saat	4,14	8,07
%15 üzüm suyu	16. saat	4,23	8,56
%0,85 inülin	24. saat	3,90	8,59
	32. saat	3,91	8,52
	40. saat	3,73	8,25
	48. saat	3,70	8,06
Run 17	0. saat	4,65	8,61
%6 yulaf sütü	8. saat	4,13	8,35
%25 üzüm suyu	16. saat	4,24	8,67
%1,7 inülin	24. saat	4,06	8,79
	32. saat	3,76	8,58
	40. saat	3,88	8,46
	48. saat	3,82	8,03

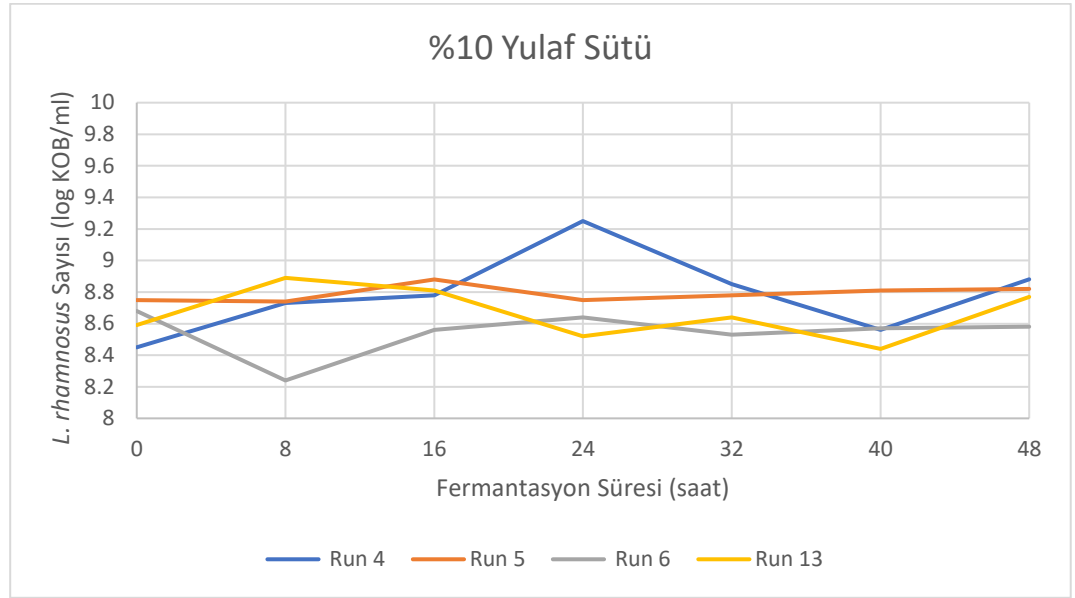
Yapılan optimizasyon değerlendirmesinde Design Expert 7.0.0 programı tarafından belirlenen 17 koşul girişi ile hazırlanan örneklerin probiyotik sayıları örneklerin yulaf oranı bazında gruplandırılarak Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.2. %2 yulaf içeriğine sahip yulaf sütü içeren optimizasyon denemelerinde 48 saat boyunca *L. rhamnosus* sayısındaki değişim



Şekil 4.3. %6 yulaf içeriğine sahip yulaf sütü içeren optimizasyon denemelerinde 48 saat boyunca elde edilen *L. rhamnosus* sayısı değişimi



Şekil 4.4. %10 yulaf içeriğine sahip yulaf sütü içeren optimizasyon denemelerinde 48 saat boyunca elde edilen *L. rhamnosus* sayısındaki değişim

L. rhamnosus sayısı:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:
- $$L. rhamnosus \text{ sayısı} = +8,59 - 0,083 * A - 0,039 * B - 0,022 * C - 0,20 * D[1] + 0,25 * D[2] + 0,066 * AB - 0,038 * AC - 0,055 * AD[1] + 0,032 * AD[2] - 0,095 * BC - 2,375E-003 * BD[1] + 0,057 * BD[2] - 0,019 * CD[1] - 6,250E-004 * CD[2] + 0,22 * A^2 + 0,050 * B^2 - 0,090 * C^2 - 0,081 * ABD[1] + 0,15 * ABD[2] + 0,14 * ACD[1] - 0,13 * ACD[2] - 0,031 * BCD[1] + 0,16 * BCD[2] + 0,086 * A^2 B + 0,20 * A^2 C + 0,13 * A^2 D[1] - 0,23 * A^2 D[2] + 0,072 * AB^2 + 8,375E-003 * B^2 D[1] + 0,028 * B^2 D[2] + 0,073 * C^2 D[1] - 0,013 * C^2 D[2]$$
- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,6484$ olarak belirlenmiştir.
- “Uyum Eksikliği” değeri 8. saat için: 0,3654 olarak; 24. saat için: 0,9015 olarak, 48. saat için ise: 0,6879 (Önemli Değil) olarak belirlenmiştir. Modelleme için yapılan karşılaştırmada “Uyum Eksikliği” değeri ise

0,7714 (Önemli Değil) olarak belirlenmiştir. Modelin p değeri ise 0,4808 olarak belirtilmiş ve model “Önemli Değil” olarak tanımlanmıştır.

- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği 8 saatlik fermantasyon için Şekil 4.5’te, 24 saatlik fermantasyon için Şekil 4.6’da ve 48 saatlik fermantasyon için ise Şekil 4.7’de verilmiştir.

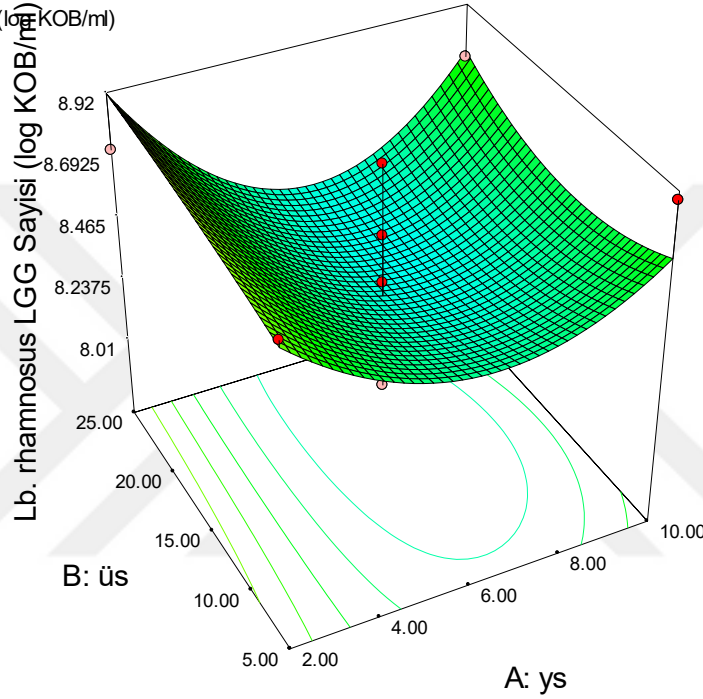
Design-Expert® Software

Lb. rhamnosus LGG Sayısı (log KOB/ml)



X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factors
C: in = 0.85
D: İnk. Saat = 8. saat



Şekil 4.5. *L. rhamnosus* LGG için fermantasyon süresi belirlemek için hazırlanan deneme desenine ait probiyotik bakteri sayımlarının inülin değeri sabit tutulduğunda 8. saate göre RSM grafiği

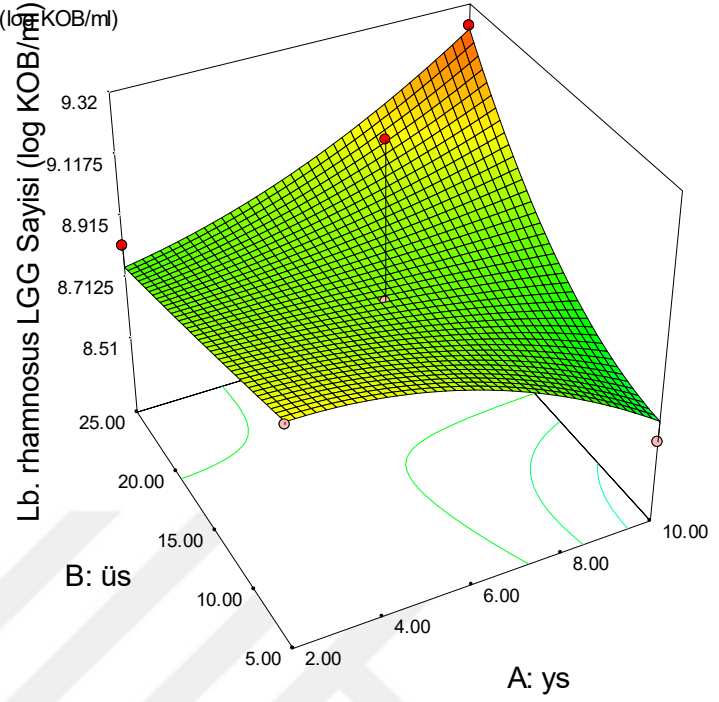
Design-Expert® Software

Lb. rhamnosus LGG Sayısı (log KOB/ml)



X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factors
C: in = 0.85
D: Ink. Saat = 24. saat



Şekil 4.6. *L. rhamnosus* LGG için fermentasyon süresi belirlemek için hazırlanan deneme desenine ait probiyotik bakteri sayımlarının inülin değeri sabit tutulduğunda 24. saate göre RSM grafiği

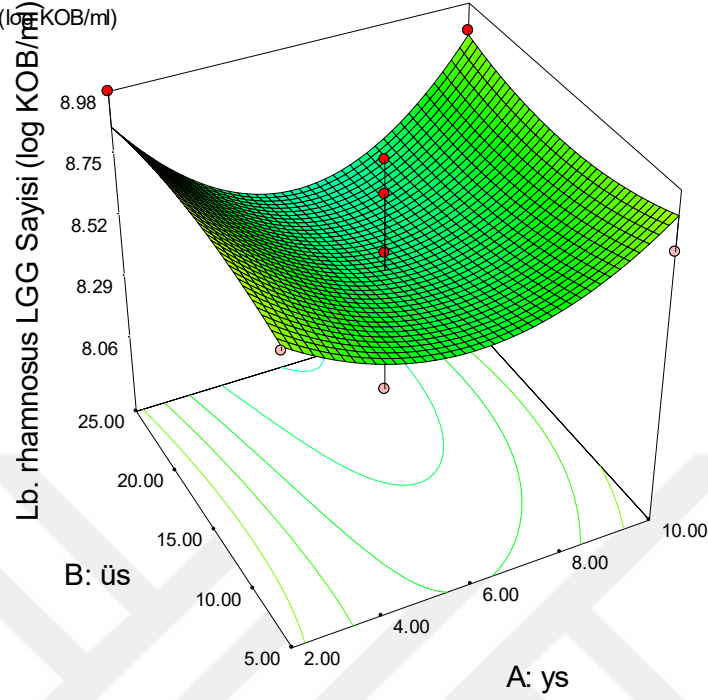
Design-Expert® Software

Lb. rhamnosus LGG Sayısı (log KOB/ml)



X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factors
C: in = 0.85
D: Ink. Saat = 48. saat



Şekil 4.7. *L. rhamnosus* LGG için fermantasyon süresi belirlemek için hazırlanan deneme desenine ait probiyotik bakteri sayımlarının inülin değeri sabit tutulduğunda 48. saate göre RSM grafiği

pH:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:
- $$\text{pH} = +3,86 + 0,16 * A + 0,035 * B + 5,115E-003 * C + 0,24 * D[1] - 0,041 * D[2] - 0,044 * AB - 5,000E-003 * A * C + 0,17 * AD[1] - 0,066 * AD[2] + 0,031 * BC - 0,041 * BD[1] + 0,030 * BD[2] - 4,282E-003 * CD[1] + 1,273E-003 * CD[2] - 0,16 * A^2 + 0,024 * B^2 + 0,027 * C^2$$
- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,8545$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin “Uyum Eksikliği” değeri 0,9993 (Önemli Değil) olarak belirlenmiştir. Modelin p değeri ise $<0,0001$ olarak belirtilmiş ve modelleme “Önemli” olarak tanımlanmıştır.

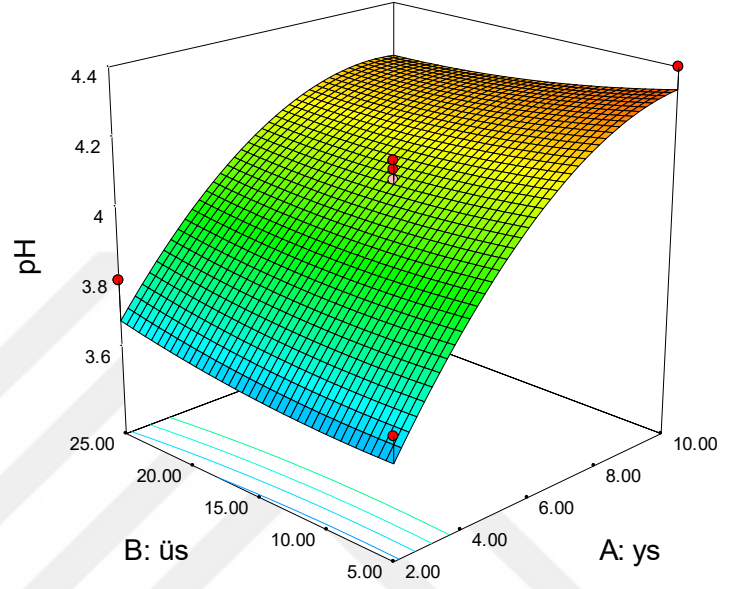
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği 8 saatlik fermentasyon için Şekil 4.8’de, 24 saatlik fermentasyon için Şekil 4.9’da ve 48 saatlik fermentasyon için ise Şekil 4.10’da verilmiştir.

Design-Expert® Software

pH
4.425
3.405

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factors
C: in = 0.85
D: Ink. Saat = 8. saat



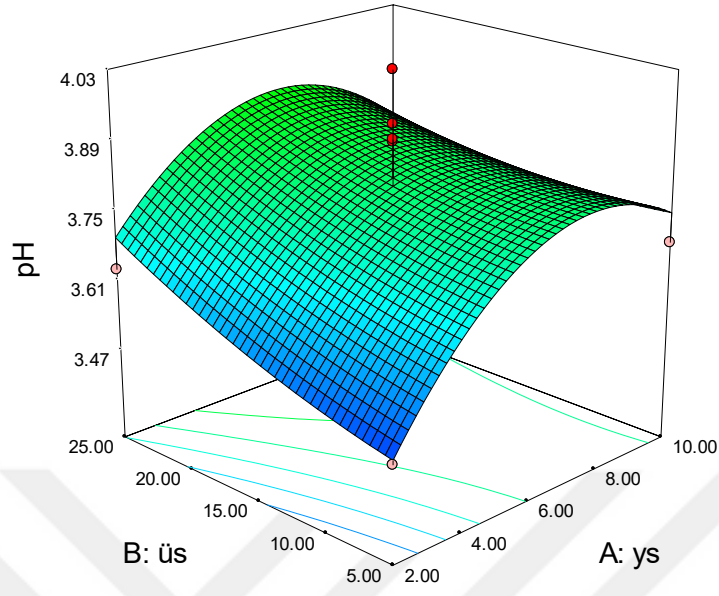
Şekil 4.8. *L. rhamnosus* LGG için fermentasyon süresi belirlemek için hazırlanan deneme desenine ait pH değerinin sabit inülin değerinde 8. saate bağlı RSM grafiği

Design-Expert® Software

pH
4.425
3.405

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factors
C: in = 0.85
D: İnk. Saat = 24. saat



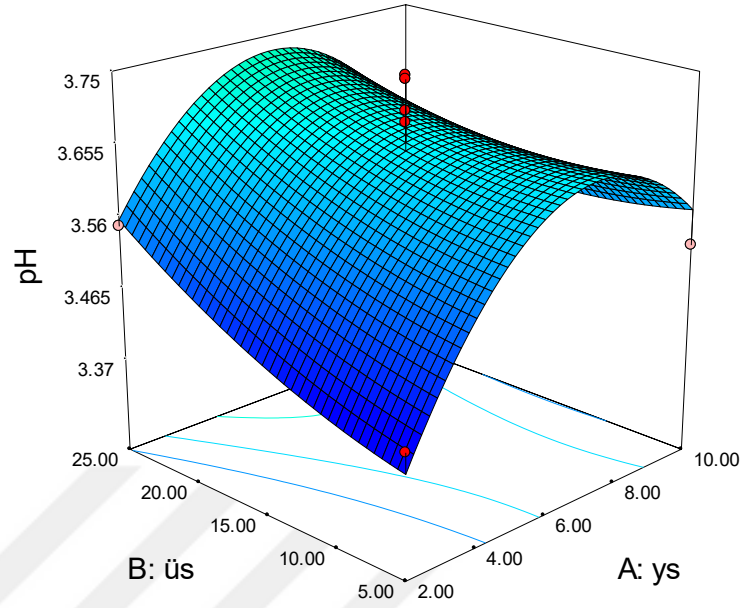
Şekil 4.9. *L. rhamnosus* LGG için fermentasyon süresi belirlemek için hazırlanan deneme desenine ait pH değerinin sabit inülin değerinde 24. saate bağlı RSM grafiği

Design-Expert® Software

pH
4.425
3.405

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factors
C: in = 0.85
D: Ink. Saat = 48. saat



Şekil 4.10. *L. rhamnosus* LGG için fermantasyon süresi belirlemek için hazırlanan deneme desenine ait pH değerinin sabit inülin değerinde 48. saate bağlı RSM grafiği

Modellemelerde elde edilen sonuçlarda R^2 değerinin %80'den büyük olması modelin değerlerinin yeterli olduğu kabul edilmektedir (Bernat et al., 2015). R^2 değerlerine bağlı olarak *L. rhamnosus* sayılarının modelleme belirlemek için yeterli bir kriter olmadığı ($R^2 = 0,6484$), pH değeri için ise ($R^2 = 0,8545$) belirleyici bir kriter olduğu bulunmuştur. Yapılan deneyler sonucu elde edilen veriler Design Expert programına işlenmiş ve yapılan optimizasyon sonucunda optimum fermantasyon süresinin belirlenmesi için yulaf sütü, üzüm suyu, inülin ve inkübasyon süresi “aralık içerisinde (in range)” olarak seçilmiştir. Cevap kısmında ise pH değerleri “aralık içerisinde (in range)” olarak işlenmiş ve *L. rhamnosus* sayısı “maksimum değer (maximize)” seçilmiştir. Oluşturulacak olan üründe probiyotik canlılığının yüksek olması istenmektedir. Seçilen koşullar kullanıldığında Design Expert programının oluşturduğu “Desirability” grafiği Şekil 4.11’de gösterilmiştir. Yapılan seçimler ile Design Expert programı *L. rhamnosus* LGG için istenen koşullarda 24 saat fermantasyon süresi ile optimum

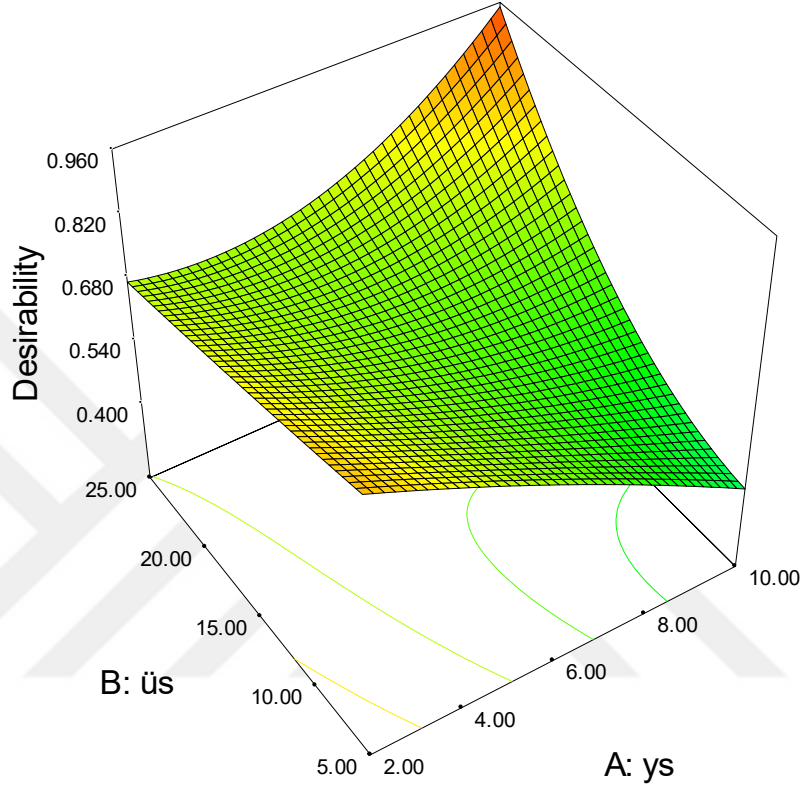
koşullar sağlayacağı göstermiştir. Bu sebeple yapılmış olan optimum koşullarda probiyotik ürün oluşturmak için yapılan denemelerde 24 saat fermantasyon süresi uygulanmıştır.

Design-Expert® Software

Desirability
1
0

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factors
C: in = 1.19
D: İn. Saat = 24. saat



Şekil 4.11. *L. rhamnosus* LGG için fermantasyon süresi belirlemek için seçilen koşullara bağlı olarak oluşturulan “Desirability” RSM grafiği

4.6.2 *L. acidophilus* La-5 içeren probiyotik ürünler için ön denemeler ve fermantasyon süresinin belirlenmesi

Lactobacillus acidophilus La-5 için kültür hazırlama yönteminin belirlenmesi:

L. acidophilus La-5 içeren probiyotik ürünlerin üretiminde fermantasyon süresinin belirlenmesi için öncelikle yapılan ön denemelerle kültür hazırlama yöntemleri, inülin ilavesi, farklı fermantasyon ortamlarının *L. acidophilus* La-5

sayılarına etkisi araştırılmıştır. Ön denemeler kapsamında yapılan analizlerde Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü mikrobiyoloji laboratuvarı bünyesinde bulunan farklı zamanlarda Chr. Hansen A/S'dan temin edilmiş olan liyofilize *L. acidophilus* La-5 kültürlerinin farklı ekim yöntemleri ve farklı yöntemler ile hazırlanan örneklerin fermantasyon boyunca canlılığını devam ettirebilme yeteneği araştırılmıştır (Tablo 4.8). Üç farklı şekilde hazırlanmış inokulumlar ile yapılan 24 saatlik fermantasyon işlemleri sonucunda sayıların 6 log KOB/ml düzeyinin altında kaldığı tespit edilmiştir.

Tablo 4.8. Farklı kültür hazırlama yöntemleri ile elde edilen ürünlerin pH değerleri ve probiyotik bakteri sayıları

Kültür inokülasyonu	pH		<i>L. acidophilus</i> La-5 Sayısı (log KOB/ml)*	
	0. Saat	24. Saat	0. Saat	24. Saat
Eski gelen liyofilize kültür paketinden alınarak MRS'de geliştirilmiş kültür süspansiyonundan %0,1 inokülasyon	4,10	4,57	<10 ⁵	<10 ⁵
Eski gelen liyofilize kültür paketinden alınarak MRS'de geliştirilmiş kültürün yulaf sütüne aktarılması ve yulaf sütünde gelişimi sonrasında %5 oranında inokülasyon	4,61	4,03	6,17	5,88
Yeni tedarik edilen liyofilize kültürden direkt ekim yapılması (%0,1)	4,75	3,63	7,62	5,47

*Denemeler iki paralelli olarak yapılmış olup, elde edilen değerlerin ortalaması verilmiştir.

İnokulum miktarı arttırılarak ve farklı kültürler kullanılarak yulaf sütü ve soya sütünün karşılaştırılması kapsamında yapılan ön denemeler:

Farklı kültür hazırlama yöntemleri ile yapılan 24 saatlik fermantasyon sürelerinin sonunda sayıların istenen düzeyde olmaması nedeniyle (Tablo 4.8), inokülasyon miktarları arttırılarak ve farklı kültürlerin kullanımı ile *L. acidophilus* La-5'in yulaf sütü ve karşılaştırma yapabilmek için soya sütü ile ön denemeler yapılmıştır (Tablo 4.9). Yapılan analizlerde *L. acidophilus* La-5 sayısının inülin

(%1,7) eklenen ve farklı kültür hazırlama yöntemleri ile yapılan denemelerin tamamında 24 saat sonunda canlılığını koruyamadığı saptanmıştır. Soya sütü örneklerinde ise inokülasyon yöntemi önemli olmaksızın sayıların 8 log birimin üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.9. İnokulum miktarı arttırılarak ve farklı kültürler kullanılarak yulaf sütü ve soya sütünün karşılaştırılması kapsamında hazırlanan örneklerin pH ve probiyotik sayım sonuçları

Örnekler	pH*			Mikroorganizma sayısı (log KOB/ml)*		
	0. saat	16. saat	24. saat	0. saat	16. saat	24. saat
Yeni tedarik edilen liyofilize kültürden alınarak MRS'de geliştirilmiş kültür süspansiyonundan yulaf sütüne %0,2 inokülasyon	4,34	3,83	3,83	<10 ⁵	<10 ⁵	<10 ⁵
Yeni tedarik edilen liyofilize kültürden yulaf sütüne direkt inokülasyon (%0,2)	4,73	3,51	3,42	8,38	6,76	5,99
Yeni tedarik edilen liyofilize kültürden soya sütüne direkt inokülasyon (%0,2)	5,97	3,83	3,73	8,21	8,16	8,44
Eski gelen liyofilize kültür paketinden alınarak MRS'de geliştirilmiş kültür süspansiyonundan yulaf sütüne %0,2 inokülasyon	4,71	4,47	4,23	<10 ⁵	<10 ⁵	<10 ⁵
Eski gelen liyofilize kültür paketinden alınarak MRS'de geliştirilmiş kültür süspansiyonundan soya sütüne %0,2 inokülasyon	6,23	5,73	4,12	<10 ⁵	6,57	8,56

*Denemeler iki paralelli olarak yapılmış olup, elde edilen değerlerin ortalaması verilmiştir.

Laboratuvar ortamında üretilen yulaf sütü ile yerel marketlerde satılan yulaf sütünün karşılaştırılması:

Laboratuvar ortamında üretilen yulaf sütü ile yerel marketlerde satılan yulaf sütünün karşılaştırılması amacıyla, yerel marketlerde hazır olarak satılan yulaf sütü (Alpro, Belçika) ile laboratuvar ortamında hazırlanan yulaf sütü örneklerinde fermentasyon süresinin sonunda probiyotik *L. acidophilus* La-5 sayıları araştırılmıştır. Denemelerde örnekler içerisine %5 (w/w) oranında üzüm suyu ve %0,5 (w/w) oranında liyofilize kültür eklenerek fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyon süresinin sonunda, yerel marketlerden tedarik edilen yulaf sütünde *L. acidophilus* La-5 sayıları yaklaşık 8 log birim düzeyindeyken, laboratuvar ortamında hazırlanan yulaf sütü içerisinde 6 log birim düzeyinde kaldığı tespit edilmiştir (Tablo 4.10). Alpro yulaf sütünde bulunan yulaf miktarının fazla olması ve üretim sırasında ilave edilmiş olan katkı maddeleri probiyotik gelişimini olumlu yönde etkilemiştir.

Tablo 4.10. Laboratuvar ortamında üretilen yulaf sütü ile yerel marketlerde satılan yulaf sütlerinde pH değerleri ve *L. acidophilus* La-5 sayılarının karşılaştırılması

Örnekler	pH*		<i>L. acidophilus</i> La-5 Sayısı (log KOB/ml)*	
	0. saat	24. saat	0. saat	24. saat
Yulaf Sütü	4,91	3,46	8,45	6,04
Alpro Yulaf Sütü	5,31	3,70	9,05	7,97

*Denemeler iki paralelli olarak yapılmış olup, elde edilen değerlerin ortalaması verilmiştir.

Yulaf sütlerine ilave edilen sükroz ve α -amilaz enziminin *L. acidophilus* La-5'in üremesi üzerine etkisinin belirlenmesi:

Gomes and Malcata (1999) tarafından yayımlanan derleme makalesinde çoğu *L. acidophilus* suşunun farklı karbonhidrat kaynaklarını kullanabildiği belirtilmiştir. Bu sebeple, hazırlanan inülin içeren yulaf sütüne şeker (sükroz)

veya karbonhidratları parçalayan enzim (α -amilaz) ilave edilerek *L. acidophilus* La-5 sayıları izlenmiştir (Tablo 4.11). Yapılan tüm ön denemelerde probiyotik sayıları 6 log KOB/ml'nin altına düştüğü için ürünler probiyotik özelliğini kaybetmiştir (FAO/WHO, 2002).

Tablo 4.11. Yulaf sütlerine sükroz ve α -amilaz enzimi eklenerek elde edilen ürünlerin pH değerleri ve probiyotik bakteri sayımı sonuçları

Örnek	<i>L. acidophilus</i> La-5			
	pH*		sayıları	
			(log KOB/ml)*	
	0. saat	24. saat	0. saat	24. saat
Sade yulaf sütü (%6'lık)	4,15	3,53	7,75	<10 ⁵
%1,5 (w/w)'lik sükrozlu yulaf sütü	4,81	3,27	7,66	<10 ⁵
%2,1 (w/w)'lik α -amilazlı yulaf sütü	4,80	3,43	7,43	<10 ⁵

*Denemeler 3 tekrerrür iki paralelli olarak yapılmış olup, elde edilen değerlerin ortalaması verilmiştir.

Yapılan ön denemelerde, farklı inokülasyon yöntemleri, farklı inokülasyon dozları, sükroz ve α -amilaz ilaveleri ile prebiyotik olarak inülin ilave edilmesi gibi denemeler sonucunda, fermentasyon sonunda örneklerin probiyotik sayıları 6 log KOB/ml'nin altına düşmüş ve probiyotik özelliklerini kaybetmiştir. Prebiyotikler, probiyotikler için seçici besin olmasına rağmen *L. acidophilus* La-5'in yüksek sayılarda canlı kalmasını destekleyici etkisi görülmemiştir. Yapılan literatür araştırmalarında düşük pH değerlerinde prebiyotik eklenmesinin probiyotikler üzerinde etkisini gösteremediği görülmüştür. Fermentasyon süresince laktik asit bakterilerinin sayıları pH, inkübasyon süresi gibi farklı ortam koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Shafiee et al., 2010). Örneklerin pH değeri düştükçe probiyotik bakterilerinin sayıları azalabilmektedir (Shah, 2000). Elde edilen literatür verisi ve ön denemeler (Tablo 4.8, 4.9, 4.10 ve 4.11) ile pH 4,2'nin altında *L. acidophilus* La-5 kültürünün düşme yaşandığı gözlemlenmiştir. *L. acidophilus* için uygun pH aralığının 5,5-6,0 aralığında olduğu belirtilmiştir (Tripathi and Giri, 2014).

Fermantasyon öncesinde ılımlı asidik ortamda bekletildikten sonra veya direkt olarak asidik ortama inoküle edilen *L. acidophilus* La-5 kültürünün pH 3,5'te fermantasyon süresince canlılığının araştırılması:

L. acidophilus La-5 kültürünün direkt olarak veya fermantasyon öncesinde ılımlı asidik (pH 5,0) ortamda 1 saat bekletildikten sonra, fermantasyon süresince düşük pH koşullarına maruz bırakıldığındaki davranışı yulaf sütünde (pH 3,5) ve MRS Broth (pH 3,5) besiyerinde araştırılmıştır. Üzüm suyunun düşük pH seviyesi *L. acidophilus* La-5 üzerinde olumsuz etki yaratacağı için deneme amacıyla %6 (w/v) yulaf içeriğine sahip yulaf sütü kullanılmıştır. Yulaf sütü veya MRS Broth kültürlerinde fermantasyon süresi başında ve fermantasyon süresi boyunca saatte bir probiyotik bakteri sayımı yapılmış olup, elde edilen sonuçlar Tablo 4.12'de verilmiştir.

Tablo 4.12. Düşük pH değerlerinde yulaf sütünde ve MRS sıvı besiyerinde fermantasyon süresi boyunca *L. acidophilus* La-5 sayıları

<i>L. acidophilus</i> La-5 Sayıları (log KOB/ml)**				
Fermantasyon süresi (saat)	Yulaf sütü		MRS Broth	
	pH 3,5	pH 5 'ten sonra pH 3,5	pH 3,5	pH 5 'ten sonra pH 3,5
0	7,01 (0,49) ^a	6,77 (0,33) ^a	7,16 (0,40) ^a	6,70 (0,54) ^a
1	6,84 (0,32) ^a	6,58 (0,24) ^a	6,83 (0,24) ^a	5,31 (3,57) ^a
2	6,98 (0,30) ^a	6,31 (0,10) ^a	6,26 (0,59) ^{ab}	6,26 (0,64) ^a
3	6,58 (0,39) ^a	6,17 (0,27) ^a	4,96 (1,47) ^b	6,03 (0,62) ^a
4	6,25 (0,38) ^a	6,21 (0,34) ^a	2,85 (2,10) ^c	5,84 (0,74) ^a
5	6,20 (0,60) ^a	5,94 (0,94) ^{ab}	<1,00 ^d	5,54 (0,80) ^a
6	5,98 (0,51) ^a	5,91 (0,58) ^{ab}	<1,00 ^d	5,68 (0,76) ^a
7	5,79 (0,26) ^a	6,09 (0,58) ^a	<1,00 ^d	5,33 (0,92) ^a
8	6,22 (0,63) ^a	6,51 (1,04) ^a	<1,00 ^d	5,34 (1,01) ^a
24	1,45 (1,46) ^b	4,83 (1,41) ^b	<1,00 ^d	<1,00 ^b

* Sayılar belirleme limitinin altında (<1 KOB/ml) bulunmuştur.

**Aynı sütun içerisinde bulunan farklı küçük harfler istatistiksel açıdan anlamlı farkı göstermektedir ($P<0,05$).

Düşük pH değerindeki yulaf sütüne (pH 3,5) direkt olarak ilave edilen *L. acidophilus* La-5 sayılarında 8 saatlik fermentasyon süresi boyunca istatistiksel açıdan önemli bir değişiklik gözlenmezken, 24. saatte sayının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde, MRS besiyerinde de 24. saatte sayıların belirleme limitinin altına düştüğü tespit edilmiştir. Önceden ılımlı asidik ortama maruz bırakıldığında fermentasyon süresince sayıların daha yüksek olduğu tespit edilmiş, ancak 24. saatlerde sayılarda yine azalma gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, *L. acidophilus* La-5 kültürünün düşük pH değerlerinde fermentasyon sonunda bile istenilen sayılarda canlı kalamadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle, fermentasyon ortamına ilave edilecek pH değerinin düşmesini engelleyen madde ile çalışılmasına yönelik ön denemeler planlanmıştır.

Yulaf sütlerine ilave edilen kalsiyum karbonatın *L. acidophilus* La-5'in üremesi üzerine etkisinin belirlenmesi:

Probiyotik sayısını etkileyen pH gibi faktörlerin yanında probiyotik gıdaların içerisine eklenen maddeler probiyotiklerin gelişimi üzerinde destekleyici, azaltıcı veya nötr özellikler gösterebilmektedir (Mattila-Sandholm et al., 2002; Tripathi and Giri, 2014). Elde edilen verilere bağlı olarak pH 3,5 değerine sahip yulaf sütünde *L. acidophilus* La-5 için azalma gözlemlendiği için, düşük pH değerini yükseltmesi için NaOH, NaHCO₃, CaCO₃ gibi alkali çözeltilerin eklenmesi ile probiyotiklerin ürün içerisinde istenen yüksek sayılarda canlı kalması desteklenebilmektedir (Darwin et al., 2019). Gıdaların içerisine eklenebilecek olan katkı maddelerinden CaCO₃ ortamın pH değerini yükselterek probiyotiklerin canlılığını sürdürmesini desteklemekte olup, aynı zamanda vegan gıdalarda kalsiyum desteği sağlayabilmektedir (Craig, 2009; Zhao et al., 2009; Gradhinta et al., 2020). Salman et al. (2012) tarafından yapılan bir araştırmada, probiyotik yoğurt örneklerine CaCO₃ desteği sağlaması için %0,5-1,1 (w/v) aralığında yumurta kabuğu eklenmiş ve *L. acidophilus*, *B. bifidum* ve *S. thermophilus* ile fermente edilerek probiyotik yoğurt elde edilmesi amaçlanmıştır. *L. acidophilus* sayılarının %0,9 oranında yumurta kabuğu içeren yoğurtlarda

fermantasyon süresinin sonunda 9,93 log KOB/ml, 9 günlük depolama süresinin sonunda ise 8,92 log KOB/ml düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise, *L. acidophilus* sayısının fermentasyon sonunda 8,84 log KOB/ml düzeyinde olduğu, depolama sonunda ise sayının 7,75 log KOB/ml'ye düştüğü belirtilmiştir. Zhao et al. (2009) tarafından yapılan araştırmada 10 g/L CaCO_3 ilave edilmiş yağsız süt, *L. bulgaricus* ve *L. helveticus* ile fermente edilmiştir. Fermentasyon sonunda elde edilen laktik asit bakterisi sayısında %150-220 artış görülmüştür. Bedani et al. (2013) tarafından yapılan araştırmada, CaCO_3 içeren soya sütü (120 mg Ca^{+2} /100 ml soya sütü) *L. acidophilus* La-5 ve *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 kullanılarak fermente edilmiştir. 28 günlük depolama süresi sonunda, *L. acidophilus* La-5 için 8.00 log KOB/g ve *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 için 8.84 log KOB/g probiyotik bakteri içerdiği saptanmıştır. Ayrıca yapılan çalışmada, CaCO_3 içeren soya sütü örnek kombinasyonlarına inülin eklendiğinde, her iki probiyotik bakterin sayısında bir anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Yapılan literatür araştırmasında ve ön deneme sonuçlarında *L. acidophilus* La-5 için örneklerle inülin eklenmesi probiyotik sayısında anlamlı bir değişiklik göstermediğinden (Tablo 4.8, 4.9, 4.10 ve 4.11) *L. acidophilus* La-5 içeren probiyotik ürün çalışmalarında inülin ilavesi yapılmamıştır. Yulaf sütü örneklerinde *L. acidophilus* La-5 gelişimini desteklemek ve depolama süresince istenen düzeylerde canlı kalmasını sağlamak amacıyla, pH seviyesinin çok fazla düşmesini engellemek için %6 (w/v) yulaf sütlerinin içerisine 120 mg Ca^{+2} /100 ml yulaf sütü olacak şekilde CaCO_3 eklenmiştir. Kontrol örneği olarak %6 (w/v) ve %10 (w/v) konsantrasyonda yulaf sütleri kullanılmıştır. Elde edilen veriler Tablo 4.13'te verilmiştir.

Tablo 4.13. Farklı konsantrasyonlarda ve içerikte hazırlanan yulaf sütleri ile yapılan ürünlerin fermentasyon süresi boyunca pH değerleri ve probiyotik bakteri sayıları

Örnek	Fermentasyon süresi	pH*	<i>L. acidophilus</i> La-5 sayısı (log KOB/ml)*
%6 (w/v) Yulaf İçeriğine Sahip Yulaf Sütü	0. saat	5,07	7,97
	8. saat	3,77	7,89
	24. saat	3,62	7,12
%10 (w/v) Yulaf İçeriğine Sahip Yulaf Sütü	0. saat	5,53	7,22
	8. saat	3,97	7,09
	24. saat	3,58	7,15
120 mg Ca ⁺² /100 ml olacak şekilde CaCO ₃ içeren %6 (w/v) Yulaf Sütü	0. saat	5,61	7,71
	8. saat	5,14	8,49
	24. saat	5,19	8,14

*Denemeler iki paralelli olarak yapılmış olup, elde edilen değerlerin ortalaması verilmiştir.

Yapılan analizlerde, kontrol örneklerine kıyasla CaCO₃ eklenmesinin pH değerini yükselttiği ve probiyotik sayılarında 1 log KOB/ml artış sağladığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar sadece yulaf sütü ile elde edilmiştir. Isabella üzüm suyunun katılmasıyla beraber pH değerinin düşeceği düşünülerek bu bölümün ikinci aşamasında, kalsiyum karbonat (120 mg Ca⁺²/100 ml) ve farklı konsantrasyonlarda üzüm suyu (%5, %15 ve %25) içeren yulaf sütüne (%6, w/w yulaf içeriği; %95, %85, %75) probiyotik ilavesinden sonra 37°C’de 30 saatlik fermentasyon süresi boyunca pH değişimi izlenmiştir. Fermentasyon başlangıcından itibaren ilk 10 saat süreyle saatte bir ve 24. 27. ve 30. saatlerde pH değerleri ölçülmüştür. Oluşturulan örneklerin pH değişimleri göz önünde bulundurularak fermentasyon süresi hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.14’te gösterilmiştir.

Tablo 4.14. Kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu ilave edilmiş yulaf sütlerinin 30 saatlik fermantasyon süresince pH değerleri

Üzüm suyu oranı	Fermantasyon süresince pH değerleri*													
	Fermantasyon süresi (saat)													
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	24	27	30
%5	5,69	5,78	5,59	5,45	5,23	5,00	4,88	4,77	4,52	4,31	4,24	3,61	3,60	3,55
%15	5,50	5,57	5,44	5,35	5,20	4,91	4,68	4,48	4,30	4,12	4,01	3,54	3,51	3,48
%25	5,19	5,34	5,26	5,11	4,81	4,60	4,44	4,34	4,12	4,04	3,99	3,58	3,54	3,50

*Denemeler üç paralelli olarak yapılmış olup, elde edilen değerlerin ortalaması verilmiştir.

Yapılan literatür çalışmasında elde edilen verilerde *L. acidophilus* için optimum pH seviyesinin 5,5-6,0 olduğu, pH 4,2 değerinin canlılığını sürdüremediği belirtilmiştir (Tripathi and Giri, 2014). Tablo 4.14 incelendiğinde, 8. saatten sonra, pH seviyesinin 4,2'nin altına düştüğü gözlemlenmiştir. Elde edilen verilerde 8 saat fermantasyon süresinin *L. acidophilus* La-5 için kullanılabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle, bu bölümün üçüncü aşamasında, kalsiyum karbonat (120 mg Ca⁺²/100 ml) ve farklı konsantrasyonlarda üzüm suyu (%5, %15 ve %25, w/w) içeren yulaf sütüne (%6, w/w; %95, %85, %75 oranlarında) probiyotik ilavesinden sonra, 8 ve 24 saatlik fermantasyon süresince pH değerleri ve probiyotik sayıları belirlenmiştir (Tablo 4.15).

Tablo 4.15. Kalsiyum karbonat içeren yulaf sütüne farklı konsantrasyonlarda üzüm suyu ilave edilmiş yulaf sütü örneklerinin 8 ve 24 saatlik fermantasyon süresince pH değerleri ve probiyotik sayıları

8 saat fermente edilen örnekler				24 saat fermente edilen örnekler			
Üzüm suyu oranı	Süre (saat)	pH	<i>L. acidophilus</i> sayısı (log KOB/ml)*	Üzüm suyu oranı	Süre (saat)	pH	<i>L. acidophilus</i> sayısı (log KOB/ml)*
%5	0	5,71	7,52	%5	0	5,76	7,52
	8	4,67	8,22		24	3,89	7,45
%15	0	5,54	7,67	%15	0	5,61	7,63
	8	4,23	8,20		24	3,72	7,57
%25	0	5,21	7,74	%25	0	5,14	7,76
	8	3,98	8,29		24	3,63	8,28

*Denemeler iki paralelli olarak yapılmış olup, elde edilen değerlerin ortalaması verilmiştir.

Yapılan ön denemede 8 saatlik fermantasyon süresi sonunda pH değerlerinin %25 üzüm suyu içeren örnekler için 3,98 olduğu fakat daha az konsantrasyonda üzüm suyu içeren örneklerin 4,2 seviyesinin üzerinde olduğu görülmüştür. Probiyotik sayılarında ise 8 saatin sonunda minimum 0,6 log KOB/ml artış saptanmıştır. 24 saatlik fermantasyon süresinin sonunda ise tüm üzüm suyu konsantrasyonları için pH değerlerinin 4,0'ın altında kaldığı saptanmıştır. Probiyotik sayılarının ise 24 saatlik fermantasyon süreleri ile kıyaslandığında, 8 saatlik fermantasyon sürelerinin sonunda sayıların daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara bağlı olarak, *L. acidophilus* La-5 için 8 saatlik fermantasyon süresi seçilmiştir.

Kalsiyum karbonat miktarının probiyotik sayısına ve pH düzeyine etkisinin kontrol edilmesi ve optimizasyon işleminde kullanılacak kalsiyum karbonat limitlerinin belirlenmesi için yeni bir deneme planı yapılmıştır. Bu ön deneme kapsamında içerisinde liyofilize kültür geliştirilmiş yulaf sütünden 20 g alınarak 130 g yulaf sütüne karıştırılmış ve içerisine 60, 120 ve 240 mg Ca^{+2} /100 ml olacak şekilde CaCO_3 ve %25 üzüm suyu eklenerek örnekler hazırlanmıştır. Kontrol grubu olarak ise içerisine %0,2 (w/w) olacak şekilde liyofilize kültür eklenen yulaf sütü kullanılmıştır. Hazırlanan örnekler 8 saat fermente edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.16'da verilmiştir.

Tablo 4.16. Farklı oranlarda kalsiyum karbonat içeren yulaf sütlerinde fermantasyon sonrası pH değerleri ve *L. acidophilus* La-5 sayıları

Örnekler	Saat	pH	<i>L. acidophilus</i> sayısı (log KOB/ml)*
120 mg Ca^{+2} /100 g yulaf sütü (Kontrol)	0. saat	6,32	7,72
	8. saat	5,46	7,79
60 mg/100 g (%75 yulaf sütü ve %25 üzüm suyu)	0. saat	4,40	-
	8. saat	3,89	7,27
120 mg/100 g (%75 yulaf sütü ve %25 üzüm suyu)	0. saat	5,30	-
	8. saat	4,08	7,81
240 mg/100 g (%75 yulaf sütü ve %25 üzüm suyu)	0. saat	5,34	-
	8. saat	4,77	7,92

*Denemeler iki paralelli olarak yapılmış olup, elde edilen değerlerin ortalaması verilmiştir.
-: fermantasyon öncesi sayımları yapılmamıştır.

Yapılan ön deneme sonucunda probiyotik sayılarının çok yüksek seviyelerde değişmediği görülmüştür. İçerisinde kültür aktifleştirilen yulaf sütlerinin başlangıç pH değeri düşük olduğu için son pH değerlerinin de düşük olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda kontrol grubu örneklerinin pH değerinin, üzüm suyu içermemesi nedeniyle, deneme örneklerinden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Kalsiyum karbonat oranı 240 mg $\text{Ca}^{+2}/100$ ml düzeyinde olan örneklerde ise, 120 mg $\text{Ca}^{+2}/100$ ml ile kıyaslandığında fermantasyon sonrasında pH değeri yüksek bulunmuş, *L. acidophilus* sayıları açısından ise önemli fark olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, kalsiyum karbonat oranı 240 mg $\text{Ca}^{+2}/100$ ml olan ürünlerin rengi ve duysal açıdan ağızda kalsiyum karbonattan kaynaklanan kumlu yapı olduğu tespit edilmiştir. Bu sebeple yapılacak olan optimizasyon çalışmalarında maksimum değer için 240 mg $\text{Ca}^{+2}/100$ ml olacak şekilde CaCO_3 içeren örnekler için deneme planının yapılmasına karar verilmiştir.

Yapılan tüm ön denemeler ve literatür araştırması sonucunda *L. acidophilus* La-5 içeren örneklere 240 mg $\text{Ca}^{+2}/100$ ml olacak şekilde CaCO_3 eklenmesi ve fermantasyon süresinin 8 saat olması planlanmıştır. Buna göre Design Expert programı ile oluşturulan deneme deseninden inülin çıkarılmış ve üst sınır 240 mg $\text{Ca}^{+2}/100$ ml olacak şekilde CaCO_3 eklenerek deneme deseni yeniden oluşturulmuştur.

4.6.3 Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği üretiminin optimizasyonu ve validasyonu

4.6.3.1 *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği üretiminin optimizasyonu ve validasyonu

Design Expert 7.0.0. programı ile Box-Behnken metoduna göre oluşturulan koşul tablosundaki bütün koşullar denenmiş ve koşullar ile oluşturulan bütün örnekler 37°C'de 24 saat fermantasyona tabi tutulmuştur. Fermantasyon süresi başında ve sonunda örneklerin pH değerleri ile *L. rhamnosus* LGG sayıları belirlenmiştir. Box-Behnken metoduna göre oluşturulan deneme deseninin

bağımlı değişkenleri Tablo 4.17’de, bağımsız değişkenleri Tablo 4.18’de ve elde edilen veriler Tablo 4.19’da verilmiştir.

Tablo 4.17. *L. rhamnosus* LGG için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımlı değişkenler

Bağımlı Değişkenler	Birimler
pH	-
Probiyotik Bakteri Sayısı	log KOB/ml
Tat	puan
Yabancı Tat	puan
Asitlik	puan
Aroma	puan
Kıvam	puan
Genel Kabul Edilebilirlik	puan
Su Tutma Kapasitesi	yüzde (%)

Tablo 4.18. *L. rhamnosus* LGG için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımsız değişkenler ve faktörlerin seviyeleri

Bağımsız Değişkenler	Birimler	Faktör Seviyeleri		
		-1	0	+1
Üzüm suyu	% (w/w)	5	15	25
Yulaf sütü	% (w/w)	2	6	10
İnülin	% (w/w)	0	0,85	1,7

Tablo 4.19. *L. rhamnosus* LGG için oluşturulan Design Expert deneme desenine bağlı olarak oluşturulan örneklerin 24 saatlik fermentasyon süresi boyunca pH değerleri ve probiyotik sayıları

Run	Yulaf Sütü (%)	Üzüm Suyu (%)	İnülin (%)	Fermentasyon Süresi	pH Değeri*	<i>L. rhamnosus</i> LGG Sayısı (log KOB/ml)*
1	6	5	1,7	0. saat	5,13	8,65
				24. saat	3,86	8,68
2	2	5	0,85	0. saat	4,15	8,87
				24. saat	3,48	8,98
3	6	15	0,85	0. saat	4,21	8,79
				24. saat	3,59	8,81
4	10	25	0,85	0. saat	4,32	8,45
				24. saat	3,75	9,25
5	10	15	1,7	0. saat	4,44	8,75
				24. saat	3,74	8,75
6	10	15	0	0. saat	4,47	8,68
				24. saat	3,73	8,64
7	2	15	0	0. saat	4,06	8,59
				24. saat	3,54	8,35
8	6	15	0,85	0. saat	4,70	9,60
				24. saat	3,89	8,69
9	6	15	0,85	0. saat	4,72	8,92
				24. saat	4,03	9,32
10	6	5	0	0. saat	4,87	9,13
				24. saat	3,89	8,96
11	6	15	0,85	0. saat	4,59	8,95
				24. saat	3,93	8,75
12	2	15	1,7	0. saat	3,88	8,95
				24. saat	3,54	9,12
13	10	5	0,85	0. saat	5,13	8,59
				24. saat	3,69	8,52
14	6	25	0	0. saat	4,53	8,15

				24. saat	3,91	8,78
15	2	25	0,85	0. saat	3,82	8,85
				24. saat	3,64	8,83
16	6	15	0,85	0. saat	4,61	8,66
				24. saat	3,90	8,59
17	6	25	1,7	0. saat	4,65	8,61
				24. saat	4,06	8,79

*Denemeler iki paralelli olarak yapılmış olup, elde edilen değerlerin ortalaması verilmiştir.

Design Expert 7.0.0. programı ile Box-Behnken metoduna göre oluşturulan koşul tablosundaki 17 koşul için oluşturulduktan sonra, örnekler 37°C’de 24 saat fermantasyona tabi tutulmuştur. Fermantasyon sonunda 4°C’de 1 gün dinlendirilen örnekler duyuşal testler uygulanmıştır. Bu kapsamda, 17 yarı eğitimli panelist ile değerlendirme yapılmış ve 9’lu hedonik skala (9: en yüksek beğeni ve 1: en düşük beğeni) kullanılarak değerlendirilmiştir. Belirtilen deneme deseni koşullarına bağılı olarak elde edilen değerler Tablo 4.20’de gösterilmiştir.

Tablo 4.20. *L. rhamnosus* LGG için oluşturulan Design Expert koşul tablosuna bağılı olarak hazırlanan örneklerin fermantasyon sonunda 17 yarı eğitimli panelist ile yapılan duyuşal değerlendirme sonuçları

Run	Yulaf Sütü (%)	Üzüm Suyu (%)	İnulin (%)	Tat	Yabancı Tat	Asitlik	Aroma	Kıvam	Genel Kabul Edilebilirlik
1	2	25	0,85	6,91	6,39	7,00	7,06	5,97	6,55
2	2	5	0,85	4,50	4,15	4,91	3,97	4,06	4,24
3	6	25	1,7	7,14	6,73	7,06	7,52	7,61	7,82
4	2	15	0	4,91	4,32	5,26	5,51	5,63	5,21
5	6	15	0,85	7,16	6,46	6,82	7,26	7,74	6,60
6	6	5	0	5,17	5,38	4,97	5,10	6,10	4,91
7	10	15	0	5,54	5,27	5,68	5,62	5,74	5,80
8	6	15	0,85	6,63	6,41	6,50	6,52	7,25	6,70
9	6	25	0	7,14	6,73	7,00	7,22	7,43	7,41
10	10	15	1,7	5,97	5,54	6,24	6,32	6,15	5,94
11	10	25	0,85	6,97	6,52	7,00	7,33	6,44	7,18
12	6	5	1,7	5,31	5,09	5,60	5,32	6,45	5,41

13	2	15	1,7	5,67	5,46	5,82	5,82	5,54	5,79
14	6	15	0,85	6,42	5,70	6,28	6,33	6,95	6,56
15	6	15	0,85	6,33	5,88	6,25	6,06	7,09	6,36
16	10	5	0,85	3,94	3,09	4,43	4,06	4,99	4,36
17	6	15	0,85	5,97	5,75	5,97	6,18	7,00	6,18

L. rhamnosus LGG için oluşturulan Design Expert koşul tablosuna bağlı olarak hazırlanan örneklerin 24 saatlik fermantasyon sonunda elde edilen su tutma kapasitesi sonuçları Tablo 4.21’de bulunmaktadır.

Tablo 4.21. *L. rhamnosus* LGG için oluşturulan Design Expert koşul tablosuna bağlı olarak hazırlanan örneklerin 24 saatlik fermantasyon sonunda elde edilen su tutma kapasitesi sonuçları

Run	Yulaf Sütü (%)	Üzüm Suyu (%)	İnülin (%)	Su Tutma Kapasitesi (%)
1	2	25	0,85	0,1274
2	2	5	0,85	0,1407
3	6	25	1,7	0,5508
4	2	15	0	0,1654
5	6	15	0,85	0,6019
6	6	5	0	0,8695
7	10	15	0	0,9990
8	6	15	0,85	0,7140
9	6	25	0	0,7127
10	10	15	1,7	0,9991
11	10	25	0,85	0,9985
12	6	5	1,7	0,6687
13	2	15	1,7	0,1365
14	6	15	0,85	0,5165
15	6	15	0,85	0,6497
16	10	5	0,85	0,9993
17	6	15	0,85	0,7888

Fermantasyon sonrasındaki *L. rhamnosus* LGG sayıları:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$L. rhamnosus \text{ LGG sayısı} = +8,73 - 0,012 * A + 0,15 * B + 0,12 * C + 0,22 * A$$

$$* B - 0,17 * A * C + 0,070 * B * C + 0,038 * A^2 + 0,12 * B^2 - 0,057 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9446$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirmesi Tablo 4.22’te verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.22. Fermantasyon sonrasındaki *L. rhamnosus* LGG sayıları için oluşturulan modelin ANOVA değerleri sonuçları

	Kareler		Ortalama	F	p-Değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Kare	Değeri	Prob > F	
Model	0,69	9	0,077	13,25	0,0013	Önemli
A-ys	1,250E-003	1	1,250E-003	0,22	0,6561	
B-üs	0,17	1	0,17	30,11	0,0009	
C-in	0,11	1	0,11	19,10	0,0033	
AB	0,19	1	0,19	33,49	0,0007	
AC	0,11	1	0,11	18,84	0,0034	
BC	0,020	1	0,020	3,39	0,1081	
A²	6,080E-003	1	6,080E-003	1,05	0,3393	
B²	0,064	1	0,064	11,02	0,0128	
C²	0,014	1	0,014	2,37	0,1679	
Kalıntı	0,040	7	5,781E-003			
Uyum Eksikliği	2,550E-003	3	8,500E-004	0,090	0,9620	Önemli Değil
Saf Hata	0,038	4	9,480E-003			

Design-Expert® Software

Lb. rhamnosus sayısı

9.25

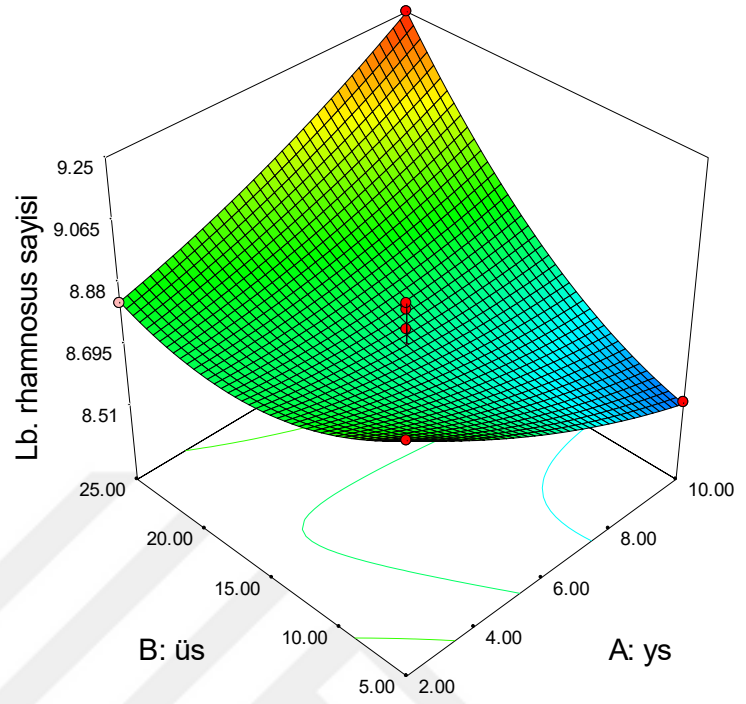
8.43

X1 = A: ys

X2 = B: üs

Actual Factor

C: in = 0.85



Şekil 4.12. Fermantasyon süresinin sonunda *L. rhamnosus* sayılarının RSM grafiği

pH değeri:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{pH}_{24. \text{ saat}} = +3,92 + 0,089 * A + 0,055 * B + 0,016 * C - 0,025 * A * B + 2,500\text{E-}003 * A * C + 0,045 * B * C - 0,29 * A^2 + 4,250\text{E-}003 * B^2 + 1,750\text{E-}003 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9615$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirmesi Tablo 4.23'te verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.13'te verilmiştir.

Tablo 4.23. pH değerleri için oluşturulan modelin ANOVA değerleri sonuçları

Kaynak	Kareler	df	Ortalama	F	p-Değeri	
	Toplamı		Kare	Değeri	Prob > F	
Model	0,45	9	0,050	19,44	0,0004	Önemli
A-ys	0,063	1	0,063	24,44	0,0017	
B-üs	0,024	1	0,024	9,39	0,0182	
C-in	2,113E-003	1	2,113E-003	0,82	0,3954	
AB	2,500E-003	1	2,500E-003	0,97	0,3575	
AC	2,500E-005	1	2,500E-005	9,698E-003	0,9243	
BC	8,100E-003	1	8,100E-003	3,14	0,1196	
A ²	0,35	1	0,35	135,71	< 0,0001	
B ²	7,605E-005	1	7,605E-005	0,030	0,8685	
C ²	1,289E-005	1	1,289E-005	5,002E-003	0,9456	
Kalıntı	0,018	7	2,578E-003			
Uyum Eksikliği	2,125E-003	3	7,083E-004	0,18	0,9061	Önemli Değil
Saf Hata	0,016	4	3,980E-003			

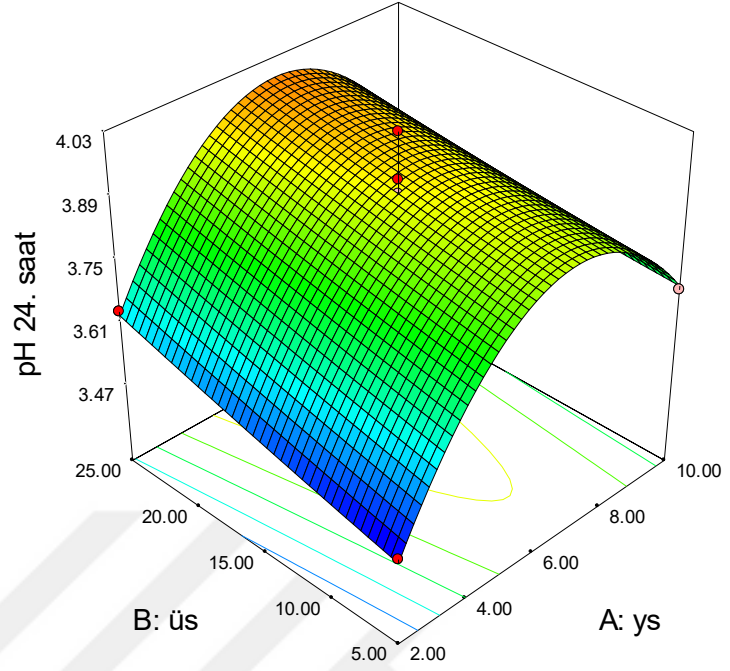
Design-Expert® Software

pH 24. saat



X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factor
C: in = 0.85



Şekil 4.13. *L. rhamnosus* LGG için 24. saat pH değerinin RSM grafiği

Tat:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Tat} = +6,50 + 0,054 * A + 1,16 * B + 0,17 * C + 0,16 * A * B - 0,082 * A * C - 0,033 * B * C - 0,80 * A^2 - 0,13 * B^2 - 0,18 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9033$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirmesi Tablo 4.24'te verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.14'te verilmiştir.

Tablo 4.24. Modelin Tat değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları

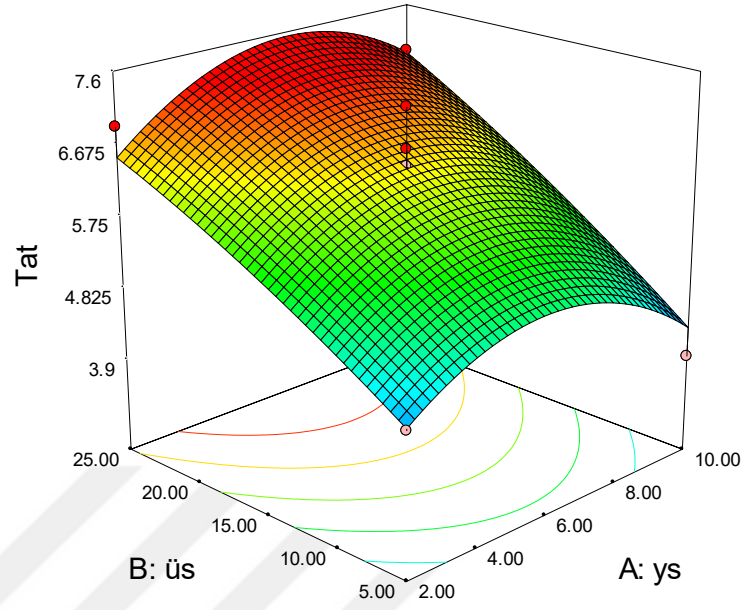
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F Değeri	p-Değeri Prob > F	
Model	14,07	9	1,56	7,26	0,0080	Önemli
A-ys	0,023	1	0,023	0,11	0,7522	
B-üs	10,68	1	10,68	49,58	0,0002	
C-in	0,22	1	0,22	1,03	0,3448	
AB	0,097	1	0,097	0,45	0,5246	
AC	0,027	1	0,027	0,12	0,7349	
BC	4,429E-003	1	4,429E-003	0,021	0,8900	
A ²	2,67	1	2,67	12,40	0,0097	
B ²	0,067	1	0,067	0,31	0,5944	
C ²	0,14	1	0,14	0,66	0,4424	
Kalıntı	1,51	7	0,22			
Uyum Eksikliği	0,73	3	0,24	1,27	0,3982	Önemli Değil
Saf Hata	0,77	4	0,19			

Design-Expert® Software

Tat
 7.1632
 3.9375

X1 = A: ys
 X2 = B: üs

Actual Factor
 C: in = 0.85



Şekil 4.14. *L. rhamnosus* LGG için fermantasyon sonu tat yanıtı için RSM grafiği

Yabancı tat:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Yabancı Tat} = +6,04 + 0,012 * A + 1,08 * B + 0,14 * C + 0,30 * A * B - 0,22 * A * C + 0,072 * B * C - 0,92 * A^2 - 0,085 * B^2 + 0,025 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,8568$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirmesi Tablo 4.25'te verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.15'te verilmiştir.

Tablo 4.25. Modelin Yabancı Tat değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F Değeri	p-Değeri Prob > F	
Model	13,70	9	1,52	4,65	0,0275	Önemli
A-ys	1,095E-003	1	1,095E-003	3,349E-003	0,9555	
B-üs	9,36	1	9,36	28,61	0,0011	
C-in	0,16	1	0,16	0,48	0,5125	
AB	0,35	1	0,35	1,07	0,3358	
AC	0,19	1	0,19	0,58	0,4713	
BC	0,021	1	0,021	0,064	0,8076	
A ²	3,55	1	3,55	10,85	0,0132	
B ²	0,030	1	0,030	0,092	0,7702	
C ²	2,669E-003	1	2,669E-003	8,162E-003	0,9305	
Kalıntı	2,29	7	0,33			
Uyum Eksikliği	1,74	3	0,58	4,25	0,0979	Önemli Değil
Saf Hata	0,55	4	0,14			

Design-Expert® Software

Yabancı Tat

6.7273

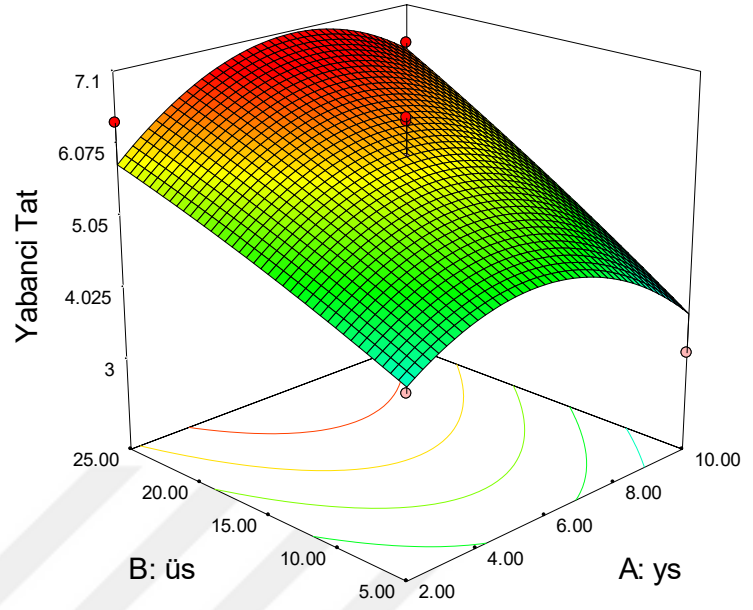
3.0909

X1 = A: ys

X2 = B: üs

Actual Factor

C: in = 0.85



Şekil 4.15. *L. rhamnosus* LGG için fermantasyon sonu yabancı tat yanıtı için RSM grafiği

Asitlik:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Asitlik} = +6,36 + 0,046 * A + 1,02 * B + 0,23 * C + 0,12 * A * B - 3,675E-003$$

$$* A * C - 0,14 * B * C - 0,47 * A^2 - 0,060 * B^2 - 0,15 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9238$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirmesi Tablo 4.26'da verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.16'da verilmiştir.

Tablo 4.26. Modelin Asitlik değerdendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları

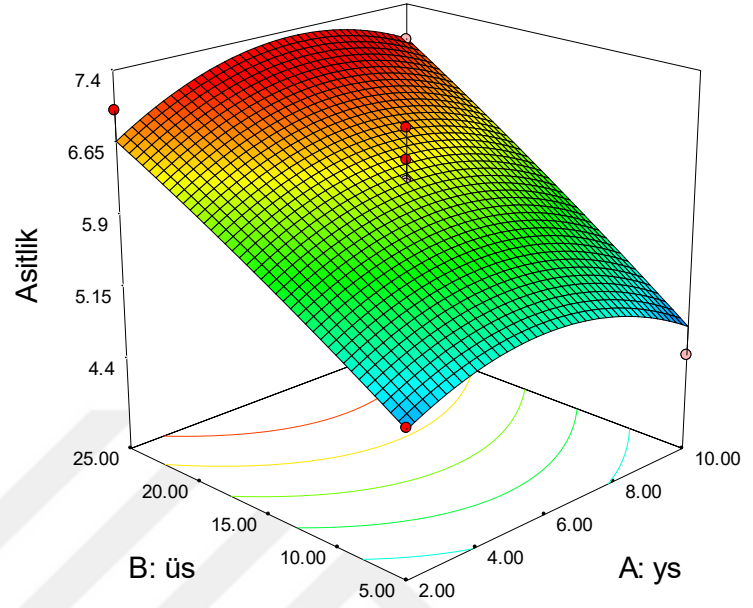
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F Değeri	p-Değeri Prob > F	
Model	9,93	9	1,10	9,43	0,0037	Önemli
A-ys	0,017	1	0,017	0,14	0,7163	
B-üs	8,28	1	8,28	70,84	< 0,0001	
C-in	0,41	1	0,41	3,51	0,1031	
AB	0,056	1	0,056	0,48	0,5121	
AC	5,402E-005	1	5,402E-005	4,620E-004	0,9835	
BC	0,080	1	0,080	0,68	0,4357	
A ²	0,92	1	0,92	7,88	0,0263	
B ²	0,015	1	0,015	0,13	0,7275	
C ²	0,090	1	0,090	0,77	0,4102	
Kalıntı	0,82	7	0,12			
Uyum Eksikliği	0,41	3	0,14	1,35	0,3780	Önemli Değil
Saf Hata	0,41	4	0,10			

Design-Expert® Software

Asitlik
7.0588
4.434

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factor
C: in = 0.85



Şekil 4.16. *L. rhamnosus* LGG için fermantasyon sonu asitlik yanıtı için RSM grafiği

Aroma:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Aroma} = +6,47 + 0,12 * A + 1,33 * B + 0,19 * C + 0,046 * A * B + 0,099 * A * C + 0,018 * B * C - 0,67 * A^2 - 0,20 * B^2 + 0,017 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9205$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirilmesi Tablo 4.27'de verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.27. Modelin Aroma değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları

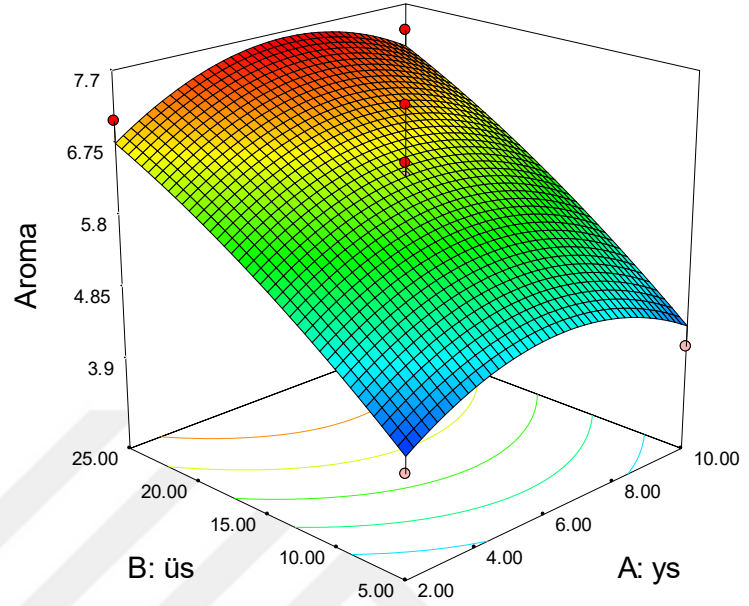
Kaynak	Kareler	df	Ortalama	F	p-Değeri	
	Toplamı		Kare	Değeri	Prob > F	
Model	16,82	9	1,87	9,01	0,0042	Önemli
A-ys	0,12	1	0,12	0,57	0,4757	
B-üs	14,25	1	14,25	68,70	< 0,0001	
C-in	0,29	1	0,29	1,41	0,2739	
AB	8,299E-003	1	8,299E-003	0,040	0,8471	
AC	0,039	1	0,039	0,19	0,6761	
BC	1,318E-003	1	1,318E-003	6,353E-003	0,9387	
A ²	1,88	1	1,88	9,07	0,0196	
B ²	0,16	1	0,16	0,79	0,4036	
C ²	1,274E-003	1	1,274E-003	6,143E-003	0,9397	
Kalıntı	1,45	7	0,21			
Uyum Eksikliği	0,55	3	0,18	0,81	0,5496	Önemli Değil
Saf Hata	0,90	4	0,23			

Design-Expert® Software

Aroma
7.5222
3.9743

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factor
C: in = 0.85



Şekil 4.17. *L. rhamnosus* LGG için fermentasyon sonu aroma yanıtı için RSM grafiği

Kıvam:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Kıvam} = +7,21 + 0,27 * A + 0,73 * B + 0,11 * C - 0,11 * A * B + 0,13 * A * C - 0,042 * B * C - 1,49 * A^2 - 0,35 * B^2 + 0,044 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9643$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirilmesi Tablo 4.28’de verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.18’de verilmiştir.

Tablo 4.28. Modelin Kıvam değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları

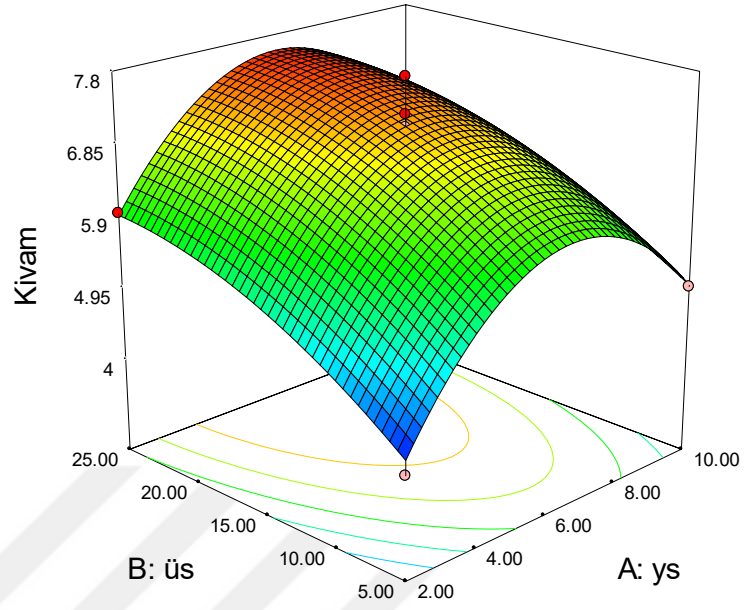
	Kareler		Ortalama	F	p-Değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Kare	Değeri	Prob > F	
Model	15,16	9	1,68	21,02	0,0003	Önemli
A-ys	0,56	1	0,56	7,01	0,0330	
B-üs	4,28	1	4,28	53,42	0,0002	
C-in	0,090	1	0,090	1,12	0,3255	
AB	0,052	1	0,052	0,65	0,4464	
AC	0,064	1	0,064	0,80	0,4001	
BC	6,956E-003	1	6,956E-003	0,087	0,7768	
A²	9,30	1	9,30	116,11	< 0,0001	
B²	0,52	1	0,52	6,55	0,0376	
C²	8,307E-003	1	8,307E-003	0,10	0,7569	
Kalıntı	0,56	7	0,080			
Uyum						Önemli
Eksikliği	0,16	3	0,052	0,52	0,6925	Değil
Saf Hata	0,40	4	0,10			

Design-Expert® Software

Kıvam
7.7353
4.0621

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factor
C: in = 0.85



Şekil 4.18. *L. rhamnosus* LGG için fermantasyon sonu kıvam yanıtı için RSM grafiği

Genel kabul edilebilirlik:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Genel Kabul} = +6,48 + 0,19 * A + 1,25 * B + 0,20 * C + 0,13 * A * B - 0,11$$

$$* A * C - 0,023 * B * C - 0,80 * A^2 - 0,095 * B^2 + 5,678E-003 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9887$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirmesi Tablo 4.29'da gösterilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.19'da verilmiştir.

Tablo 4.29. Modelin Genel Kabul Edilebilirlik değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları

	Kareler		Ortalama	F	p-Değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Kare	Değeri	Prob > F	
Model	16,10	9	1,79	67,95	< 0,0001	Önemli
A-ys	0,28	1	0,28	10,49	0,0143	
B-üs	12,59	1	12,59	478,42	< 0,0001	
C-in	0,34	1	0,34	12,75	0,0091	
AB	0,066	1	0,066	2,50	0,1581	
AC	0,048	1	0,048	1,81	0,2204	
BC	2,158E-003	1	2,158E-003	0,082	0,7829	
A²	2,69	1	2,69	102,20	< 0,0001	
B²	0,038	1	0,038	1,45	0,2674	
C²	1,357E-004	1	1,357E-004	5,156E-003	0,9448	
Kalıntı	0,18	7	0,026			
Uyum Eksikliği	0,011	3	3,595E-003	0,083	0,9658	Önemli Değil
Saf Hata	0,17	4	0,043			

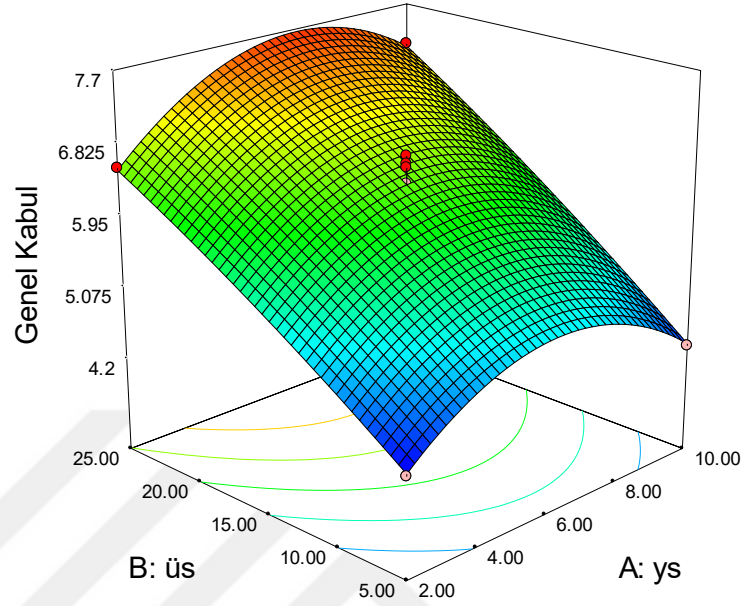
Design-Expert® Software

Genel Kabul



X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factor
C: in = 0.85



Şekil 4.19. *L. rhamnosus* LGG için fermantasyon sonu genel kabul edilebilirlik yanıtı için RSM grafiği

Su Tutma:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Su Tutma} = +0,65 + 0,43 * A - 0,036 * B - 0,049 * C + 3,125E-003 * A * B + 7,250E-003 * A * C + 9,725E-003 * B * C - 0,11 * A^2 + 0,019 * B^2 + 0,027 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9591$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirmesi Tablo 4.30'da verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.20'de verilmiştir.

Tablo 4.30. Modelin Genel Kabul Edilebilirlik değerlendirmesinin ANOVA yardımı ile elde edilen sonuçları

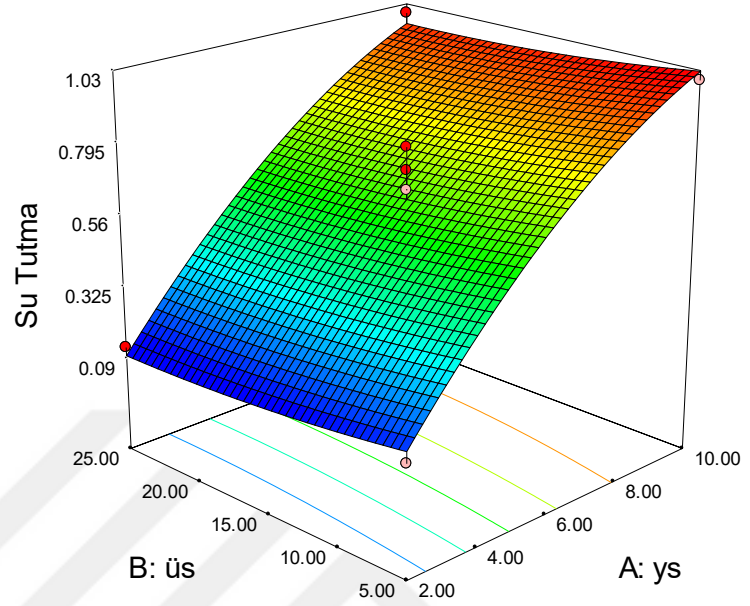
Kaynak	Kareler	df	Ortalama	F	p-Değeri	
	Toplamı		Kare	Değeri	Prob > F	
Model	1,55	9	0,17	18,25	0,0005	Önemli
A-ys	1,47	1	1,47	155,66	< 0,0001	
B-üs	0,010	1	0,010	1,11	0,3279	
C-in	0,019	1	0,019	2,03	0,1970	
AB	3,906E-005	1	3,906E-005	4,145E-003	0,9505	
AC	2,103E-004	1	2,103E-004	0,022	0,8855	
BC	3,783E-004	1	3,783E-004	0,040	0,8469	
A ²	0,048	1	0,048	5,07	0,0590	
B ²	1,498E-003	1	1,498E-003	0,16	0,7020	
C ²	3,158E-003	1	3,158E-003	0,34	0,5809	
Kalıntı	0,066	7	9,425E-003			
Uyum Eksikliği	0,023	3	7,522E-003	0,69	0,6026	Önemli Değil
Saf Hata	0,043	4	0,011			

Design-Expert® Software

Su Tutma
0.9993
0.1274

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factor
C: in = 0.85



Şekil 4.20. *L. rhamnosus* LGG için fermantasyon sonu su tutma yanıtı için RSM grafiği

Yapılan optimizasyon, istatistiksel ve duyu analizler sonucunda Design Expert programı ile oluşturulan koşul listesi Yanıt Yüzey Metoduna göre analiz edilmiştir. Yulaf sütü, üzüm suyu ve inülin “aralık içerisinde (in range)” olarak seçilmiştir. Cevap kısmında ise *L. rhamnosus* LGG sayısı, pH, aroma, kıvam ve genel kabul edilebilirlik değerleri “aralık içerisinde (in range)” olarak işlenmiş ve su tutma için “target: 0,7” seçilmiştir. Yapılan seçimler ile *L. rhamnosus* LGG ile hazırlanan ürün içeriğinin %6,74 (w/v)’lük yulaf içeriğine sahip yulaf sütü (%75) ve %25 (w/v) oranında üzüm suyu ve %1,53 (w/v) oranında inülin içermesine ve en etkili fermantasyon süresinin ise 24 saat olduğunda programın verdiği “Desirability” değerinin 1,0000 olduğu görülmüştür. Bu değerlere bağlı olarak 3 tekerrür 2 paralel olacak şekilde yeni örnekler oluşturulmuş ve elde edilen sonuçlar tekrar deney sürecine tabii tutularak validasyon testleri yapılmıştır. Elde edilen değerlere bağlı olarak oluşturulan örneklerin optimum koşullara bağlı

olarak tahmin edilen sonuçlar ile uyumluluğu kontrol edilmiştir ve *L. rhamnosus* LGG için Tablo 4.31’de gösterilmiştir.

Tablo 4.31. *L. rhamnosus* LGG için elde edilen optimum koşulları ile oluşturulan örneklerin deney sonucunda vereceği tahmini sonuçlar

Bağımlı değişkenler	Tahmin	Tahmin (Min)	Tahmin (Max)	DeneySEL Sonuç*
<i>L. rhamnosus</i> LGG sayısı (log KOB/ml)	9,13	8,91	9,36	8,20 (0,37)
pH	4,03	3,89	4,19	3,35 (0,01)
Tat	7,51	6,15	8,89	8,26 (0,21)
Yabancı tat	7,21	5,52	8,91	7,89 (0,17)
Asitlik	7,31	6,30	8,32	7,98 (0,18)
Aroma	7,81	6,46	9,16	8,18 (0,18)
Kıvam	7,66	6,82	8,50	8,26 (0,13)
Genel Kabul	7,80	7,32	8,28	8,21 (0,16)
Su Tutma	0,69	0,41	0,99	0,58 (0,00)

*Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Yapılan optimizasyon deneyleri sonucunda elde edilen optimum koşullar ile elde edilen örnekler probiyotik sayımı, pH ölçümü ve duyuşsal analizlere tabi tutulmuş ve elde edilen sonuçlar Design Expert 7.0.0. programının vermiş olduğı tahmini değerler ile karşılaştırılmıştır. Tablo 4.31’de *L. rhamnosus* LGG ile hazırlanan örneklerde probiyotik sayısının minimum tahmin değerinin altında kaldığı gözlemlenmiştir. Ayrıca fermantasyon sonunda elde edilen pH değerinin tahmin edilenden daha düşük olduğı gözlemlenmiştir. Yapılan denemeler ile yulaf sütünün başlangıç değerinin Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliğı bölümünde kullanılan saf su ve içme suları ile denenmiş ve pH değerlerinin yakın olduğı gözlemlenmiştir. Isabella üzümünün 2019 ve 2020 yıllarının ekim aylarında toplanan üzüm sularının pH değerlerinin birbirinden farklı olduğı gözlemlenmiştir. 2020 yılında elde edilen üzüm sularının pH değerleri (3,34) 2019 yılında elde edilen üzüm suyunun pH değerinden (3,62) daha düşüktür. Bu sebeple örneklerin pH değerlerinin optimize koşulların tahmin değerinden daha düşük olduğı gözlemlenmiştir. Fakat elde edilen tahmin değerlerine göre duyuşsal

ve su tutma kapasitesi sonuçları tahmin değerleri sınırlarının arasında olduğu gözlemlenmiştir. Bu sebeple *L. rhamnosus* LGG için elde edilen optimize koşulların (%6,74, w/v)'lük yulaf içeriğine sahip yulaf sütü (%75) ve %25 (w/v) oranında üzüm suyu ve %1,53 (w/v) oranında inülin validasyonunu sağlamış olmaktadır. Üretilen yulaf sütü kontrol örnekleri Şekil 4.21'de, üzüm suyu kontrol örnekleri Şekil 4.22'de ve optimum koşullarda hazırlanan örnekler Şekil 4.23'te gösterilmiştir.



Şekil 4.21. *L. rhamnosus* LGG ile üretilen yulaf sütü kontrol örnekleri



Şekil 4.22. *L. rhamnosus* LGG ile üretilen üzüm suyu kontrol örnekleri



Şekil 4.23. *L. rhamnosus* LGG ile üretilen optimum koşullarda hazırlanan örnekler

4.6.3.2 *L. acidophilus* La-5 içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği üretiminin optimizasyonu ve validasyonu

Design Expert 7.0.0. programı ile Box-Behnken metoduna göre CaCO_3 ile oluşturulan koşul tablosunda yer alan 17 koşul oluşturulmuş ve oluşturulan örneklere *L. acidophilus* La-5 inokülasyonundan sonra 37°C 'de 8 saat fermentasyon işlemi için bekletilmiştir. Fermentasyon süresi başında ve sonunda pH değerleri ile *L. acidophilus* La-5 sayıları belirlenmiş, fermentasyon süresinin sonunda duyuusal testler ve su tutma kapasitesi analizleri yapılmıştır. Box-Behnken metoduna göre oluşturulan deneme deseninin bağımlı değişkenleri Tablo 4.32'de, bağımsız değişkenleri Tablo 4.33'te ve elde edilen pH değerleri ile *L. acidophilus* La-5 sayıları Tablo 4.34'te gösterilmiştir.

Tablo 4.32. *L. acidophilus* La-5 için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımlı değişkenler

Bağımlı Değişkenler	Birimler
pH değeri	-
<i>L. acidophilus</i> La-5 Sayısı	log KOB/ml
Tat	puan
Yabancı Tat	puan
Asitlik	puan
Aroma	puan
Kıvam	puan
Genel Kabul Edilebilirlik	puan
Su Tutma Kapasitesi	yüzde (%)

Tablo 4.33. *L. acidophilus* La-5 için oluşturulan deneme deseninde kullanılan bağımsız değişkenler ve faktörlerin seviyeleri

Bağımsız Değişkenler	Birimler	Faktör Seviyeleri		
		-1	0	+1
Üzüm suyu	% (w/w)	5	15	25
Yulaf sütü	% (w/w)	2	6	10
Ca ⁺²	mg/100 ml	0	120	240

Tablo 4.34. *L. acidophilus* La-5 için CaCO₃ eklenerek oluşturulan Design Expert koşul tablosuna bağlı olarak oluşturulan örneklerin fermantasyon başında ve sonunda elde edilen pH ve *L. acidophilus* La-5 Sayıları

Run	Yulaf Sütü (%)	Üzüm Suyu (%)	CaCO ₃		pH değeri	<i>L. acidophilus</i> La-5 Sayısı (log KOB/ml)
			Miktarı (mg Ca ⁺² /100ml yulaf sütü)	Fermantasyon Süresi		
1	6	15	120	0. saat	5,46	7,78
				8. saat	3,97	7,65
2	6	15	120	0. saat	5,39	8,12
				8. saat	4,06	7,64
3	6	5	240	0. saat	5,85	7,59
				8. saat	5,29	7,87
4	6	5	0	0. saat	4,32	8,47
				8. saat	3,64	7,84
5	2	15	0	0. saat	4,05	7,97
				8. saat	3,81	7,23
6	6	25	0	0. saat	3,97	7,91
				8. saat	3,85	6,33
7	6	15	120	0. saat	5,58	8,10
				8. saat	4,11	7,87
8	10	15	240	0. saat	5,72	7,61
				8. saat	4,50	7,81
9	2	5	120	0. saat	6,12	8,25
				8. saat	4,97	7,69
10	6	15	120	0. saat	5,78	8,05
				8. saat	4,10	8,42
11	10	25	120	0. saat	5,33	7,82
				8. saat	3,95	8,25
12	10	5	120	0. saat	5,64	7,93
				8. saat	4,11	8,81
13	2	25	120	0. saat	5,64	8,22

				8. saat	4,27	7,92
14	6	25	240	0. saat	5,38	8,23
				8. saat	4,86	7,89
15	2	15	240	0. saat	5,65	7,54
				8. saat	5,22	7,81
16	6	15	120	0. saat	5,56	7,61
				8. saat	4,16	7,61
17	10	15	0	0. saat	4,31	7,72
				8. saat	3,80	7,08

Design Expert 7.0.0. programı ile Box-Behnken metoduna göre oluşturulan koşul tablosundaki (Tablo 4.34) bütün koşullar denenmiş ve koşullar ile oluşturulan bütün örnekler 37°C’de 8 saat fermantasyona tabi tutulmuştur. Elde edilen örnekler ile fermantasyon sonunda 4°C’de 1 gün dinlendirilen örnekler 17 yarı eğitimli panelist ile değerlendirme yapılmış ve 9’lu hedonik skala (9: en yüksek beğeni ve 1: en düşük beğeni) kullanılmıştır. Duyusal testler sonucunda belirtilen koşullara bağlı olarak elde edilen değerler Tablo 4.35’te, su tutma kapasitesi değerleri Tablo 4.36’da verilmiştir.

Tablo 4.35. *L. acidophilus* La-5 için oluşturulan Design Expert koşul tablosuna bağlı olarak hazırlanan örneklerin fermantasyon sonunda duyusal değerlendirme sonuçları

Run	Yulaf Sütü (%)	Üzüm Suyu (%)	CaCO ₃ Miktarı (mg Ca ⁺² /100ml yulaf sütü)	Tat	Yabancı Tat	Asitlik	Aroma	Kıvam	Genel Kabul Edilebilirlik
1	6	15	120	4,83	5,03	5,14	5,08	6,36	5,19
2	6	15	120	5,16	5,09	5,31	5,18	6,41	5,28
3	6	5	240	2,14	2,17	2,78	2,47	4,92	2,50
4	6	5	0	3,35	3,12	3,87	3,62	5,20	3,44
5	2	15	0	3,47	2,91	3,63	3,42	3,40	3,38
6	6	25	0	7,17	6,44	6,86	7,25	7,31	7,25
7	6	15	120	4,61	4,37	4,69	4,54	5,91	4,83
8	10	15	240	2,11	2,19	2,83	2,33	3,00	2,22
9	2	5	120	1,47	1,44	2,09	1,39	2,11	1,90

10	6	15	120	4,34	4,17	4,51	4,44	5,33	4,56
11	10	25	120	6,40	5,86	6,16	6,54	6,11	6,11
12	10	5	120	1,92	1,81	2,44	1,83	2,17	1,94
13	2	25	120	6,31	5,84	5,97	6,15	6,00	6,28
14	6	25	240	5,38	5,18	5,54	5,30	5,94	5,97
15	2	15	240	1,75	1,58	2,31	1,64	2,58	2,06
16	6	15	120	4,74	4,66	5,19	5,16	6,80	5,30
17	10	15	0	3,39	2,98	4,03	3,29	3,46	3,50

Tablo 4.36. *L. acidophilus* La-5 için oluşturulan Design Expert koşul tablosuna bağlı olarak hazırlanan örneklerin fermantasyon sonunda elde edilen su tutma kapasiteleri

Run	Yulaf Sütü (%)	Üzüm Suyu (%)	CaCO ₃ Miktarı (mg Ca ⁺² /100ml yulaf sütü)	Su Tutma Kapasitesi (%)
1	6	15	120	0,5788
2	6	15	120	0,5804
3	6	5	240	0,6159
4	6	5	0	0,4500
5	2	15	0	0,1321
6	6	25	0	0,3732
7	6	15	120	0,5283
8	10	15	240	0,8641
9	2	5	120	0,1160
10	6	15	120	0,5287
11	10	25	120	0,7130
12	10	5	120	0,9401
13	2	25	120	0,1351
14	6	25	240	0,4700
15	2	15	240	0,1385
16	6	15	120	0,5200
17	10	15	0	0,7919

L. acidophilus La-5 sayısı:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$L. acidophilus \text{ La-5 sayısı} = + 7,72 + 0,062 * A - 0,36 * B + 0,39 * C - 0,20 * A * B + 0,038 * A * C + 0,39 * B * C + 0,22 * A^2 + 0,22 * B^2 - 0,46 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9819$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirilmesi Tablo 4.37’de verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.24’te verilmiştir.

Tablo 4.37. Fermantasyon sonrasındaki *L. acidophilus* La-5 sayıları için oluşturulan modelin ANOVA değerleri sonuçları

Kaynak	Kareler		Ortalama		F		p-Değeri
	Toplamı	df	Kare	Değeri	Değeri	Prob > F	
Model	4,26	9	0,47	42,22	< 0,0001		Önemli
A-ys	0,030	1	0,030	2,70	0,1442		
B-üs	1,01	1	1,01	90,41	< 0,0001		
C-caco	1,21	1	1,21	108,37	< 0,0001		
AB	0,16	1	0,16	14,22	0,0070		
AC	5,929E-003	1	5,929E-003	0,53	0,4905		
BC	0,59	1	0,59	52,94	0,0002		
A ²	0,20	1	0,20	18,29	0,0037		
B ²	0,21	1	0,21	18,62	0,0035		
C ²	0,89	1	0,89	79,71	< 0,0001		
Kalıntı	0,078	7	0,011				
Uyum Eksikliği	0,018	3	5,974E-003	0,40	0,7642		Önemli
Saf Hata	0,060	4	0,015				Değil

Design-Expert® Software

Lb. acidophilus Sayısı

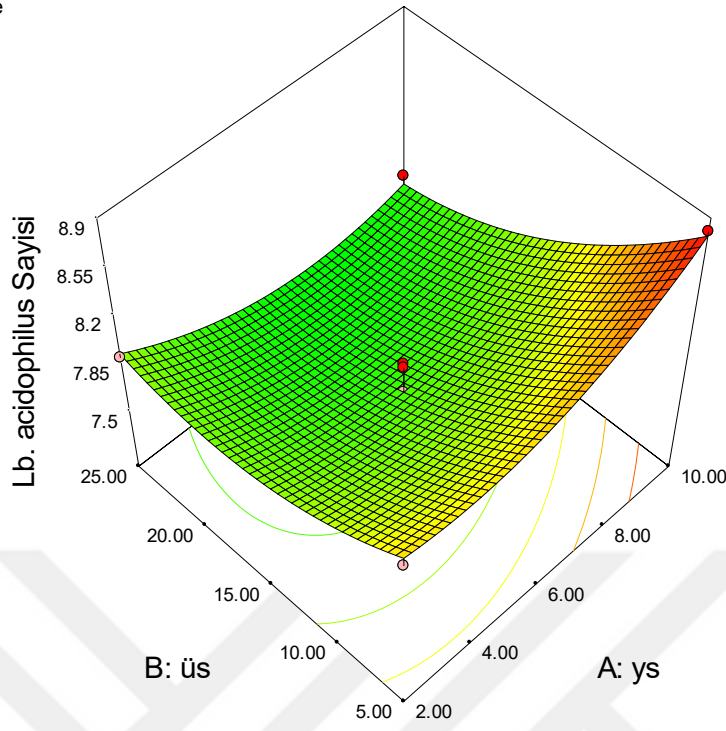


X1 = A: ys

X2 = B: üs

Actual Factor

C: caco = 120.00

Şekil 4.24. *L. acidophilus* La-5 için 8. saat probiyotik bakteri sayımlarının RSM grafiği

pH:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{pH}_{8.\text{saat}} = 4,08 - 0,236875 * A - 0,134375 * B + 0,59625 * C + 0,135 * A * B - 0,17625 * A * C - 0,15875 * B * C + 0,08125 * A^2 + 0,16125 * B^2 + 0,1675 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9679$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirilmesi Tablo 4.38'de gösterilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.25'te verilmiştir.

Tablo 4.38. Modelin pH değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları

Kaynak	Kareler		Ortalama		F		p-Değeri
	Toplamı	df	Kare	Değeri	Değeri	Prob > F	
Model	4,02	9	0,45	23,42	0,0002	Önemli	
A-ys	0,45	1	0,45	23,55	0,0018		
B-üs	0,14	1	0,14	7,58	0,0284		
C-caco	2,84	1	2,84	149,23	< 0,0001		
AB	0,073	1	0,073	3,83	0,0914		
AC	0,12	1	0,12	6,52	0,0379		
BC	0,10	1	0,10	5,29	0,0550		
A ²	0,028	1	0,028	1,46	0,2664		
B ²	0,11	1	0,11	5,74	0,0477		
C ²	0,12	1	0,12	6,20	0,0416		
Kalıntı	0,13	7	0,019				
Uyum	0,11	3	0,038	7,47	0,0408	Önemli	
Eksikliği							
Saf Hata	0,020	4	5,050E-003				

Design-Expert® Software

pH 8. saat

5.285

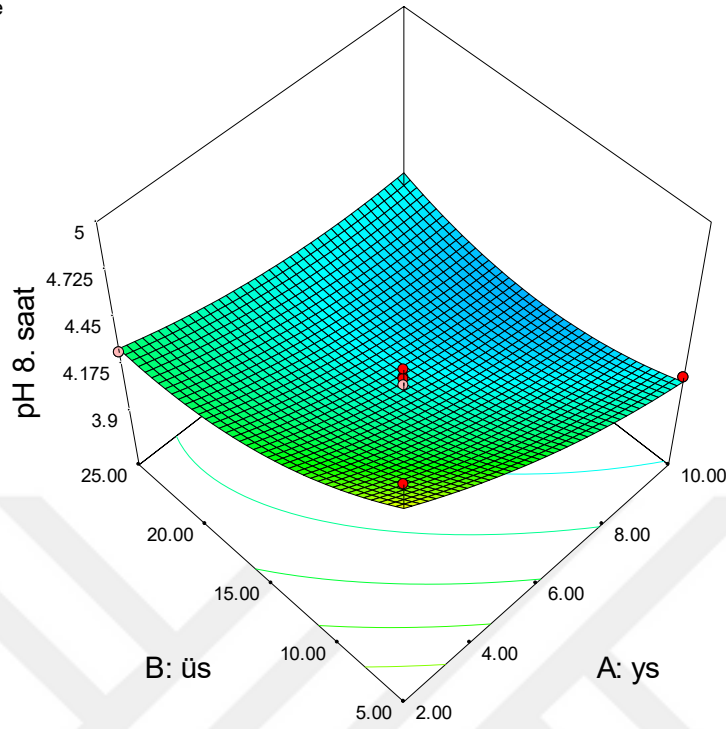
3.64

X1 = A: ys

X2 = B: üs

Actual Factor

C: caco = 120.00



Şekil 4.25. *L. acidophilus* La-5 için 8. saat pH değerinin RSM grafiği

Tat:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:
- $Tat = +4,74 + 0,10 * A + 2,05 * B - 0,75 * C - 0,089 * A * B + 0,11 * A * C - 0,14 * B * C - 1,27 * A^2 + 0,56 * B^2 - 0,79 * C^2$
- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9798$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirilmesi Tablo 4.39'da verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.26'da verilmiştir.

Tablo 4.39. Modelin Tat değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları

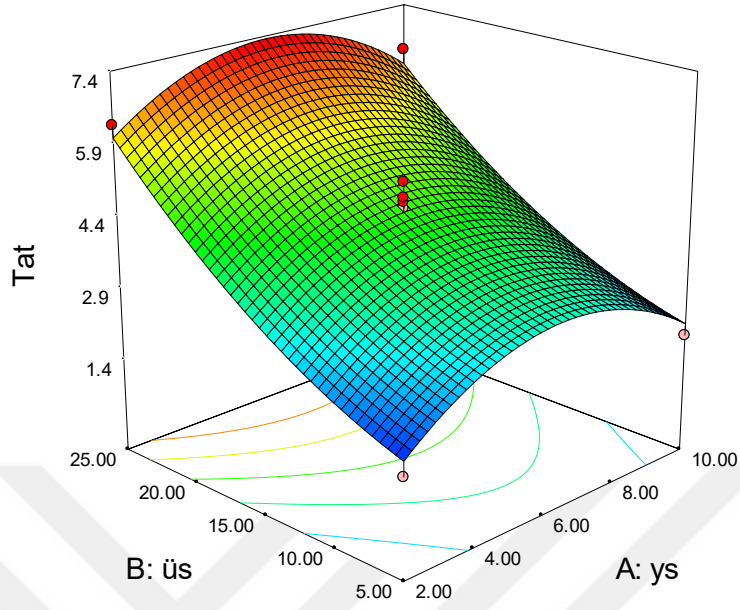
	Kareler		Ortalama	F	p-Değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Kare	Değeri	Prob > F	
Model	48,98	9	5,44	37,79	< 0,0001	Önemli
A-ys	0,084	1	0,084	0,59	0,4692	
B-üs	33,54	1	33,54	232,89	< 0,0001	
C-caco	4,49	1	4,49	31,17	0,0008	
AB	0,032	1	0,032	0,22	0,6531	
AC	0,047	1	0,047	0,32	0,5866	
BC	0,081	1	0,081	0,56	0,4769	
A ²	6,80	1	6,80	47,22	0,0002	
B ²	1,32	1	1,32	9,16	0,0192	
C ²	2,60	1	2,60	18,04	0,0038	
Kalıntı	1,01	7	0,14			Önemli Değil
Uyum	0,65	3	0,22	2,43	0,2055	
Eksikliği						
Saf Hata	0,36	4	0,089			

Design-Expert® Software

Tat
7.166
1.472

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factor
C: caco = 120.00



Şekil 4.26. *L. acidophilus* La-5 için fermentasyon sonu tat yanıtı için RSM grafiği

Yabancı tat:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Yabancı Tat} = +4.66 + 0.13 \cdot A + 1.85 \cdot B - 0.54 \cdot C - 0.086 \cdot A \cdot B + 0.14 \cdot A \cdot C - 0.079 \cdot B \cdot C - 1.37 \cdot A^2 + 0.44 \cdot B^2 - 0.88 \cdot C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0.9717$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirilmesi Tablo 4.40'ta verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.27'de verilmiştir.

Tablo 4.40. Modelin Yabancı Tat değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları

	Kareler		Ortalama	F	p-Değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Kare	Değeri	Prob > F	
Model	42,07	9	4,67	26,74	0,0001	Önemli
A-ys	0,14	1	0,14	0,79	0,4026	
B-üs	27,34	1	27,34	156,39	< 0,0001	
C-caco	2,34	1	2,34	13,38	0,0081	
AB	0,030	1	0,030	0,17	0,6933	
AC	0,075	1	0,075	0,43	0,5341	
BC	0,025	1	0,025	0,14	0,7172	
A ²	7,88	1	7,88	45,08	0,0003	
B ²	0,83	1	0,83	4,74	0,0658	
C ²	3,25	1	3,25	18,59	0,0035	
Kalıntı	1,22	7	0,17			
Uyum						Önemli
Eksikliği	0,58	3	0,19	1,19	0,4208	Değil
Saf Hata	0,65	4	0,16			

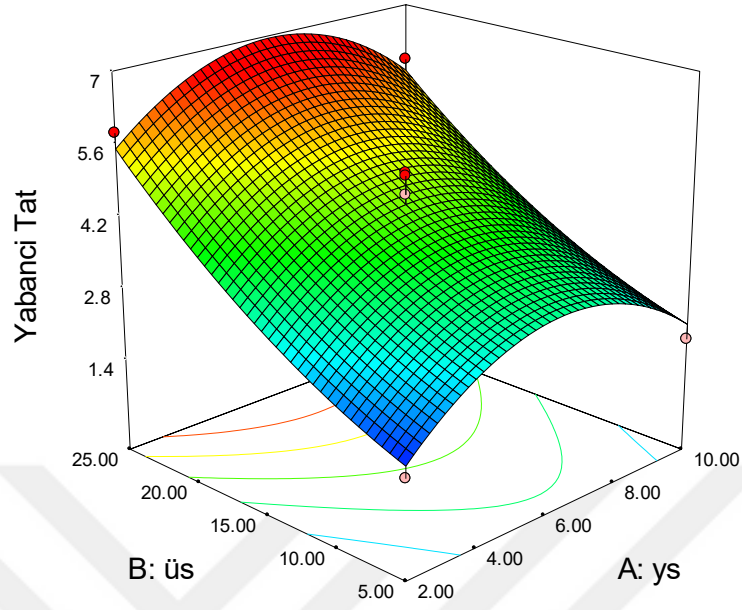
Design-Expert® Software

Yabancı Tat



X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factor
C: caco = 120.00



Şekil 4.27. *L. acidophilus* La-5 için fermantasyon sonu yabancı tat yanıtı için RSM grafiği

Asitlik:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Asitlik} = +4,97 + 0,18 * A + 1,67 * B - 0,62 * C - 0,041 * A * B + 0,031 * A *$$

$$C - 0,058 * B * C - 1,18 * A^2 + 0,38 * B^2 - 0,59 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9731$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirilmesi Tablo 4.41’de verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.28’de verilmiştir.

Tablo 4.41. Modelin Asitlik değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları

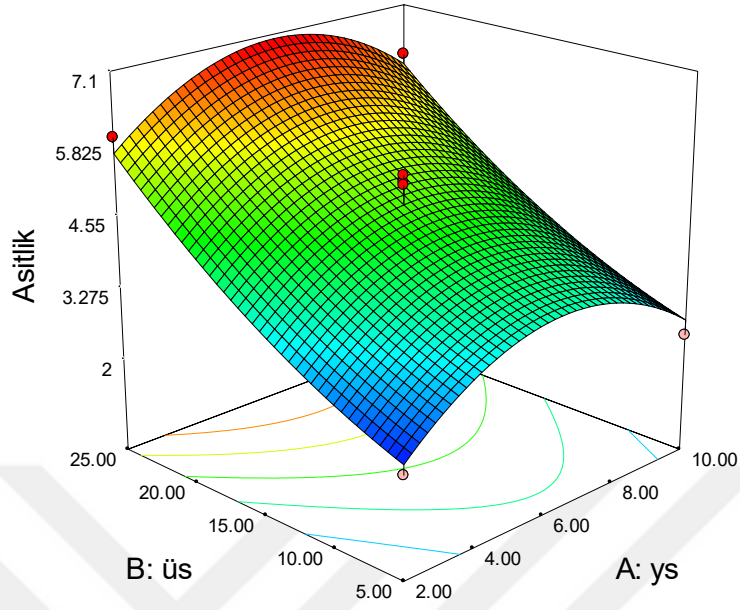
Kaynak	Kareler		Ortalama		F	p-Değeri	
	Toplamı	df	Kare	Değeri	Değeri	Prob > F	
Model	33,61	9	3,73	28,16	0,0001	0,0001	Önemli
A-ys	0,27	1	0,27	2,06	0,1944	0,1944	
B-üs	22,28	1	22,28	167,99	< 0,0001	< 0,0001	
C-caco	3,04	1	3,04	22,94	0,0020	0,0020	
AB	6,642E-003	1	6,642E-003	0,050	0,8293	0,8293	
AC	3,770E-003	1	3,770E-003	0,028	0,8709	0,8709	
BC	0,013	1	0,013	0,10	0,7593	0,7593	
A2	5,88	1	5,88	44,33	0,0003	0,0003	
B2	0,61	1	0,61	4,58	0,0697	0,0697	
C2	1,45	1	1,45	10,92	0,0130	0,0130	
Kalıntı	0,93	7	0,13				
Uyum Eksikliği	0,44	3	0,15	1,22	0,4121	0,4121	Önemli Değil
Saf Hata	0,49	4	0,12				

Design-Expert® Software

Asitlik
6.861
2.09

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factor
C: caco = 120.00



Şekil 4.28. *L. acidophilus* La-5 için fermentasyon sonu asitlik yanıtı için RSM grafiği

Aroma:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Aroma} = +4,88 + 0,17 * A + 1,99 * B - 0,73 * C - 0,014 * A * B + 0,21 * A *$$

$$C - 0,20 * B * C - 1,45 * A^2 + 0,54 * B^2 - 0,76 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9672$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirilmesi Tablo 4.42'de verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.29'da verilmiştir.

Tablo 4.42. Modelin Aroma değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları

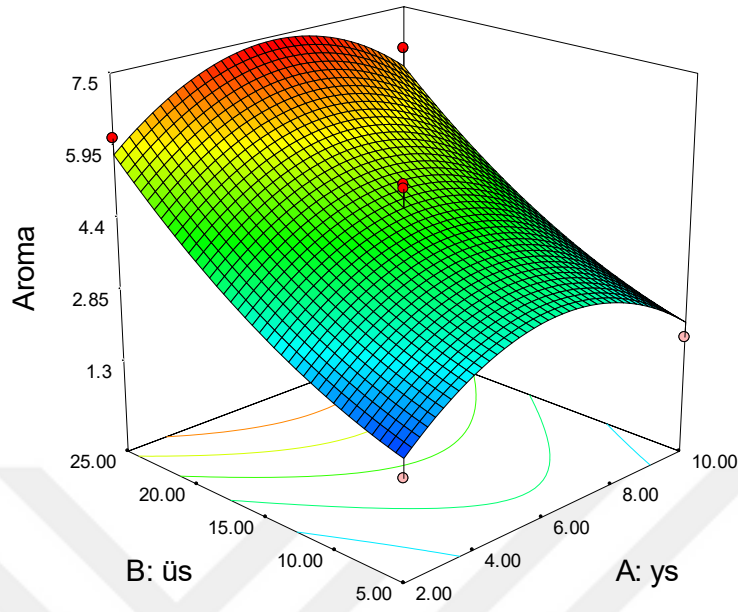
Kaynak	Kareler	df	Ortalama	F	p-Değeri	
	Toplamı		Kare	Değeri	Prob > F	
Model	49,05	9	5,45	22,91	0,0002	Önemli
A-ys	0,24	1	0,24	1,02	0,3453	
B-üs	31,69	1	31,69	133,22	< 0,0001	
C-caco	4,26	1	4,26	17,92	0,0039	
AB	7,673E-004	1	7,673E-004	3,226E-003	0,9563	
AC	0,17	1	0,17	0,72	0,4235	
BC	0,16	1	0,16	0,68	0,4382	
A ²	8,81	1	8,81	37,05	0,0005	
B ²	1,24	1	1,24	5,20	0,0565	
C ²	2,44	1	2,44	10,27	0,0150	
Kalıntı	1,66	7	0,24			Önemli Değil
Uyum Eksikliği	1,15	3	0,38	2,96	0,1610	
Saf Hata	0,52	4	0,13			

Design-Expert® Software

Aroma
7.25
1.388

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factor
C: caco = 120.00



Şekil 4.29. *L. acidophilus* La-5 için fermentasyon sonu aroma yanıtı için RSM grafiği

Kıvam:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Kıvam} = +6,16 + 0,081 * A + 1,37 * B - 0,37 * C + 0,014 * A * B + 0,088 * A * C - 0,27 * B * C - 2,40 * A^2 + 0,33 * B^2 - 0,65 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9145$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirilmesi Tablo 4.43'te verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.30'da verilmiştir.

Tablo 4.43. Modelin Kıvam değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları

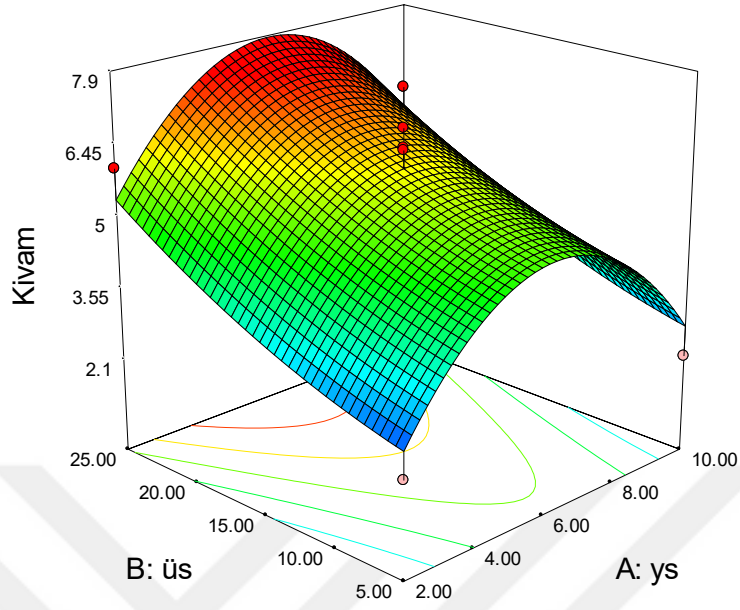
	Kareler		Ortalama	F	p-Değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Kare	Değeri	Prob > F	
Model	43,39	9	4,82	8,32	0,0054	Önemli
A-ys	0,052	1	0,052	0,090	0,7726	
B-üs	15,02	1	15,02	25,93	0,0014	
C-caco	1,07	1	1,07	1,84	0,2171	
AB	7,840E-004	1	7,840E-004	1,353E-003	0,9717	
AC	0,031	1	0,031	0,054	0,8232	
BC	0,29	1	0,29	0,50	0,5039	
A ²	24,24	1	24,24	41,84	0,0003	
B ²	0,47	1	0,47	0,81	0,3985	
C ²	1,80	1	1,80	3,11	0,1212	
Kalıntı	4,06	7	0,58			
Uyum Eksikliği	2,80	3	0,93	2,96	0,1606	Önemli Değil
Saf Hata	1,26	4	0,31			

Design-Expert® Software

Kıvam
7.305
2.111

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factor
C: caco = 120.00



Şekil 4.30. *L. acidophilus* La-5 için fermantasyon sonu kıvam yanıtı için RSM grafiği

Genel kabul edilebilirlik:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Genel Kabul} = +5,03 + 0,019 * A + 1,98 * B - 0,60 * C - 0,055 * A * B$$

$$+ 0,013 * A * C - 0,085 * B * C - 1,49 * A^2 + 0,51 * B^2 - 0,76 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9860$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirilmesi Tablo 4.44'te verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.31'de verilmiştir.

Tablo 4.44. Modelin Genel Kabul Edilebilirlik değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F Değeri	p-Değeri Prob > F	
Model	47,16	9	5,24	54,82	< 0,0001	Önemli
A-ys	2,926E-003	1	2,926E-003	0,031	0,8661	
B-üs	31,32	1	31,32	327,70	< 0,0001	
C-caco	2,91	1	2,91	30,46	0,0009	
AB	0,012	1	0,012	0,12	0,7345	
AC	6,426E-004	1	6,426E-004	6,723E-003	0,9369	
BC	0,029	1	0,029	0,30	0,5995	
A ²	9,30	1	9,30	97,33	< 0,0001	
B ²	1,11	1	1,11	11,61	0,0113	
C ²	2,41	1	2,41	25,18	0,0015	
Kalıntı	0,67	7	0,096			
Uyum Eksikliği	0,24	3	0,081	0,75	0,5747	Önemli Değil
Saf Hata	0,43	4	0,11			

Design-Expert® Software

Genel Kabul

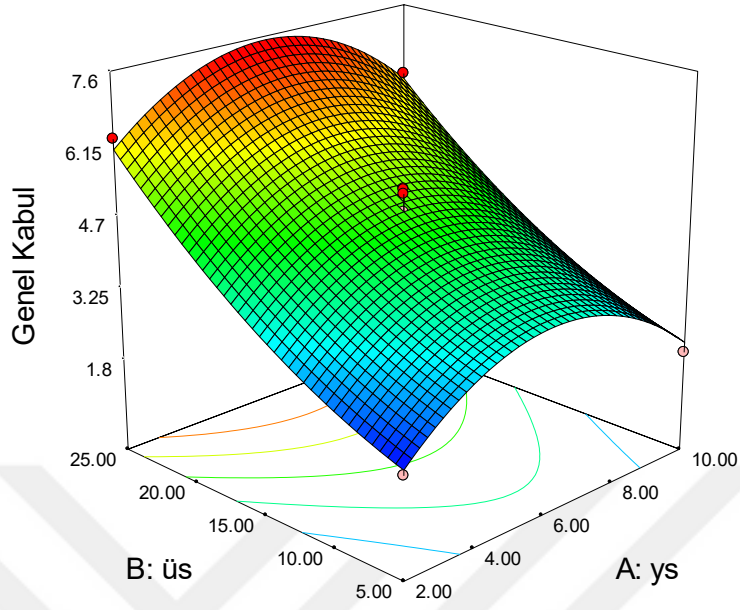


X1 = A: ys

X2 = B: üs

Actual Factor

C: caco = 120.00



Şekil 4.31. *L. acidophilus* La-5 için fermantasyon sonu genel kabul edilebilirlik yanıtı için RSM grafiği

Su Tutma:

- Box-Behnken Optimizasyon deseni uygulandığında elde edilen sonuçlara bağlı olarak oluşturulan denklem verilmiştir:

$$\text{Su Tutma} = +0,55 + 0,35 * A - 0,054 * B + 0,043 * C - 0,062 * A * B + 0,016$$

$$* A * C - 0,017 * B * C - 0,033 * A^2 - 0,038 * B^2 - 0,032 * C^2$$

- Bu denkleme bağlı $R^2 = 0,9925$ olarak belirlenmiştir.
- Modelin değerlendirilmesi Tablo 4.45'te verilmiştir.
- Bu modele ait Yanıt Yüzey Metodu grafiği Şekil 4.32'de verilmiştir.

Tablo 4.45. Modelin Su Tutma değerleri için elde edilen ANOVA değerleri sonuçları

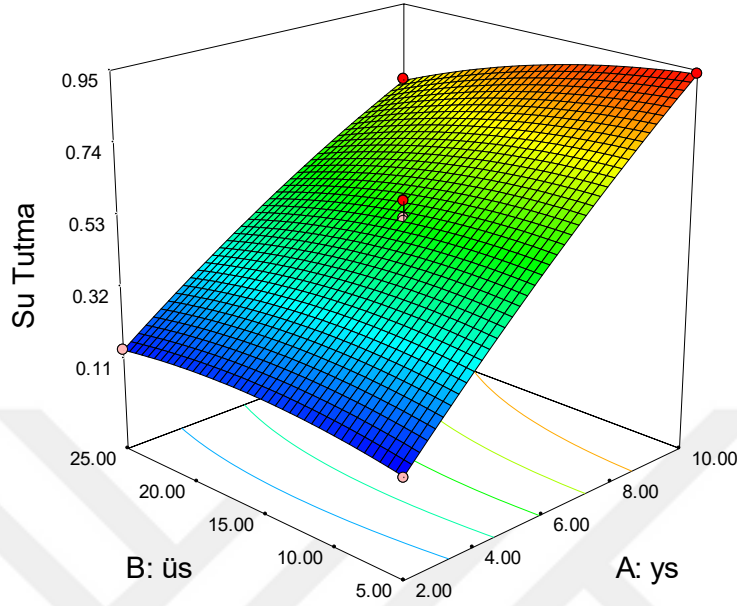
	Kareler		Ortala	F	p-Değeri	
Kaynak	Toplamı	df	ma Kare	Değeri	Prob > F	
Model	1,04	9	0,12	103,52	< 0,0001	Önemli
A-ys	0,97	1	0,97	867,35	< 0,0001	
B-üs	0,023	1	0,023	20,71	0,0026	
C-caco	0,015	1	0,015	13,00	0,0087	
AB	0,015	1	0,015	13,53	0,0079	
AC	1,082E-003	1	1,082E-003	0,97	0,3583	
BC	1,194E-003	1	1,194E-003	1,07	0,3362	
A ²	4,699E-003	1	4,699E-003	4,20	0,0797	
B ²	6,011E-003	1	6,011E-003	5,37	0,0536	
C ²	4,361E-003	1	4,361E-003	3,89	0,0890	
Kalıntı	7,838E-003	7	1,120E-003			
Uyum Eksikliği	4,298E-003	3	1,433E-003	1,62	0,3188	Önemli Değil
Saf Hata	3,540E-003	4	8,850E-004			

Design-Expert® Software

Su Tutma
0.9401
0.116

X1 = A: ys
X2 = B: üs

Actual Factor
C: caco = 120.00



Şekil 4.32. *L. acidophilus* La-5 için fermantasyon sonu su tutma yanıtı için RSM grafiği

Yapılan deneyler sonucu elde edilen veriler Design Expert programına işlenmiş ve yapılan optimizasyon sonucunda optimum fermantasyon süresinin belirlenmesi için yulaf sütü, üzüm suyu ve kalsiyum karbonat içeriği “aralık içerisinde (in range)” olarak seçilmiştir. Cevap kısmında ise pH, *L. acidophilus* La-5 sayısı, tat, asitlik, aroma ve genel kabul edilebilirlik değerleri “aralık içerisinde (in range)” olarak işlenmiştir. Seçilen koşullar kullanıldığında Design Expert programının oluşturduğu “Desirability” değeri program tarafından 1,0000 olarak verilmiş ve bu koşullara bağlı optimum koşullar %5,24 (w/v)’luk yulaf içeriğine sahip yulaf sütü (%75,01), %24,99 (w/v) oranında üzüm suyu ve 197,35 mg Ca^{+2} /100 ml yulaf sütü olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ile optimum noktada 3 tekerrür 2 paralel olacak şekilde validasyon testleri yapılmıştır. Elde edilen değerlere bağlı olarak oluşturulan örneklerin optimum koşullara bağlı olarak tahmin edilen sonuçlar ile uyumluluğu kontrol edilmiş olup, *L. acidophilus* La-5 için Tablo 4.46’da verilmiştir.

Tablo 4.46. *L. acidophilus* La-5 için elde edilen optimum koşulları ile oluşturulan örneklerin deney sonucunda vereceği tahmini sonuçlar

Bağımlı değişkenler	Tahmin	Tahmin (Min)	Tahmin (Max)	DeneySEL Sonuç*
<i>L. acidophilus</i> La-5 Sayısı (log KOB/ml)	7,93	7,62	8,23	7,90 (0,39)
pH	4,50	4,11	4,90	4,86 (0,06)
Tat	6,38	5,29	7,47	5,82 (0,20)
Yabancı tat	6,11	4,91	7,31	5,90 (0,22)
Asitlik	6,26	5,22	7,31	5,45 (0,20)
Aroma	6,39	4,99	7,79	5,49 (0,21)
Kıvam	7,07	4,88	9,25	7,13 (0,15)
Genel Kabul	6,72	5,83	7,60	5,81 (0,21)
Su Tutma	0,40	0,3	0,5	0,61 (0,01)

* Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Tablo 4.46’da *L. acidophilus* La-5 için elde edilen probiyotik sayısı ve pH değerlerinin tahmin sınırları içerisinde olduğu belirlenmiştir. Hazırlanan örnekler ile yapılan duyuşal testlerde tat, yabancı tat, asitlik, aroma ve kıvam değerlerinin tahmin sınırları içerisinde olduğu gözlemlenmiş, genel kabul edilebilirlik değerinin ise tahmin sınırlarının minimum değerinde olduğu ve su tutma kapasitesi değerinin maksimum değer üzerinde olduğu görülmüştür. Elde edilen validasyon sonuçları ile tahmin değerleri uyumlu olduğu için *L. acidophilus* La-5 için elde edilen optimize koşulların %5,24 (w/v)’luk yulaf içeriğine sahip yulaf sütü (%75,01) ve %24,99 (w/v) oranında üzüm suyu ve 197,35 mg/100 ml yulaf sütü oranında CaCO₃ içeren örneklerin validasyonu sağlanmıştır. *L. acidophilus* La-5 kullanılarak elde edilen örnekler Şekil 4.33’te gösterilmiştir.

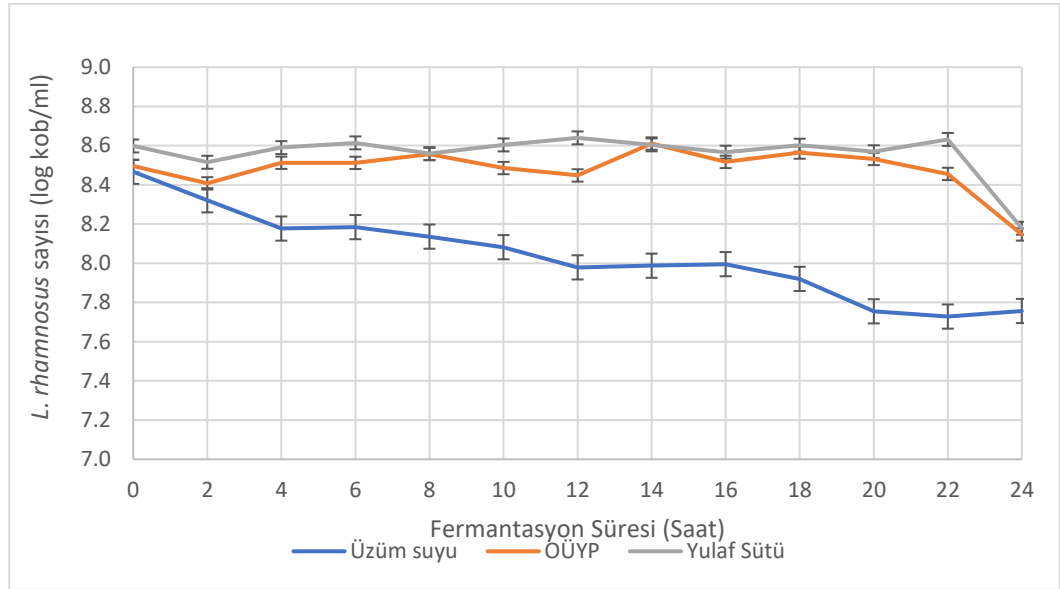


Şekil 4.33. *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan örnekler

4.7 Optimize Edilmiş Koşullarda Fermantasyon Süresince Probiyotik Bakteri Sayılarının ve pH Değerlerinin Belirlenmesi

4.7.1 Fermantasyon süresince *L. rhamnosus* LGG sayılarının ve pH değerlerinin belirlenmesi

Optimize edilmiş koşullarda üretilmiş Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) kontrol örnekleri *L. rhamnosus* LGG ile 24 saat fermente edilmiş ve fermantasyon süresi boyunca 2 saate bir probiyotik sayımı yapılmıştır. Yapılan analiz ile fermantasyon prosesi boyunca OÜPY ve kontrol örnekleri için probiyotiklerin üreme eğrileri oluşturulmuştur (Şekil 4.34).



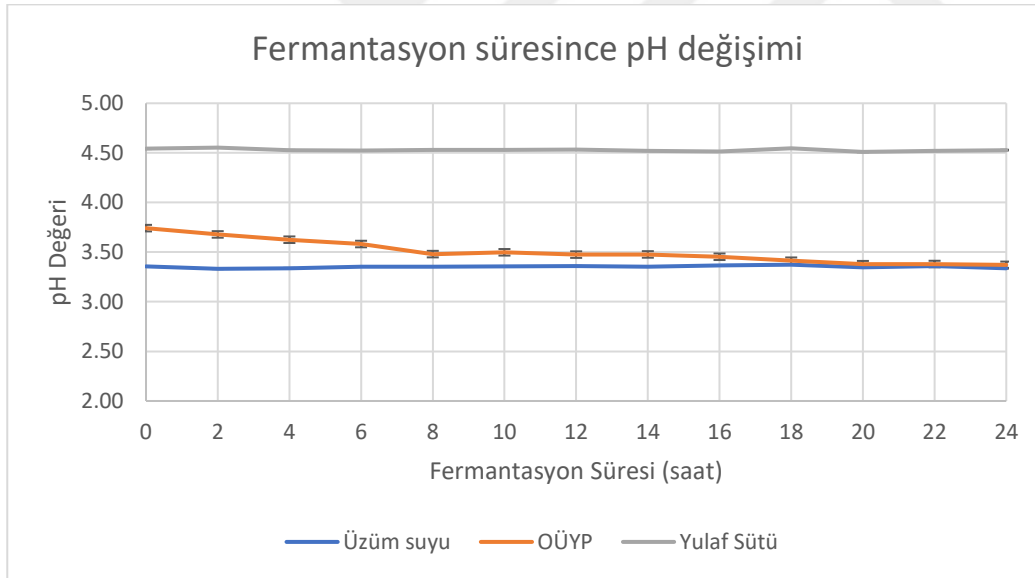
Şekil 4.34. Optimize edilmiş koşullarda üretilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü örneklerinde fermantasyon süresince *L. rhamnosus* LGG sayıları

Elde edilen sonuçlara göre üzüm suyu örneklerinde düşük pH seviyesine bağlı olarak probiyotik sayısında azalma olduğu gözlemlenmiştir. Optimize edilmiş koşullarda üretilmiş Isabella üzüm suyu içeren probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü kontrol örneklerinde 22. saate kadar probiyotik sayısı 8,4 log KOB/ml üzerinde devam ederken 24. saatin sonunda probiyotik sayılarında OÜYP için 0,31 log KOB/ml, yulaf sütü kontrol örnekleri için ise 0,43 log KOB/ml azalma gözlemlenmiştir. Fermantasyon sonunda optimum koşullarda oluşturulmuş örneklerde ve kontrol örneklerinde probiyotik sayısı yaklaşık 8,1 log KOB/ml olduğu için ürünler probiyotik özelliğini korumaktadır. Benzer şekilde, Zhu et al. (2019) tarafından yapılan çalışmada *L. rhamnosus* GG ve *L. paracasei* kullanılarak tofu peynir altı suyu içeceği üretilmiştir. 37°C’de 36 saat boyunca fermente edilen örneklerde *L. rhamnosus* GG ve *L. paracasei* sayısı ilk 20 saatte 9,13 log KOB/ml seviyesine ulaşmış, fakat fermantasyonun sonunda sayılar 8,83 log KOB/ml seviyesine düşmüştür.

Yan et al. (2019) tarafından yapılan çalışmada yabanmersini kabuğu suyuna 7,5 log KOB/ml olacak şekilde *L. rhamnosus* LGG kültürü eklenmiştir. Kültür eklenen örnekler 37°C’de 24 saat fermente edilmiş ve fermantasyon

sonunda probiyotik sayısının 11,3 log KOB/ml olduğu gözlemlenmiştir. Masiá et al. (2020) tarafından yapılan araştırmada *St. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus* LGG ve *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 kültürleri ile yulaf, soya ve hindistan cevizi bazlı hazırlanan örnekler, 43°C’de pH 4,5’e düşene kadar fermente edildikten sonra, *L. rhamnosus* LGG sayısının fermentasyon sonunda 8-9 log KOB/ml olduğu gözlemlenmiştir.

Optimize edilmiş koşullarda üretilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), sade üzüm suyu ve yulaf sütü kontrol örnekleri *L. rhamnosus* LGG ile 24 saat fermentasyona tabi tutulmuş ve 2 saate bir pH ölçümü yapılmıştır. Yapılan analiz ile fermentasyon boyunca örnekler ve kontrol grubu için pH değişimi gözlemlenmiştir. Elde edilen pH değerleri üzüm suyu kontrol, optimum koşul ile hazırlanan örnekler ve yulaf sütü kontrol örnekleri için ise Şekil 4.35’te gösterilmiştir.



Şekil 4.35. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü örneklerinde fermentasyon süresince pH değerleri

L. rhamnosus LGG ile hazırlanan üzüm suyu örneklerinde fermentasyon süresince pH değerlerinin 3,30-3,41 aralığında olduğu belirlenmiştir. Optimize

Ravindran and RadhaiSri (2020) tarafından yapılan araştırmada enkapstüle edilmiş *L. plantarum* kullanılarak çilek ve baharat içerikli yulaf sütü içeceği üretilmiş ve kontrol örneği olarak ise fermente edilmeyen örnek kullanılmıştır. Fermente edilmeyen örneğin pH değeri 4,36 seviyesinde iken fermente edilen çilekli ve baharatlı ürünlerin pH değeri 4,16'ya düşmüştür.

Daneshi et al. (2013) tarafından yapılan araştırmada *L. acidophilus* La-5, *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12, *L. plantarum* subsp. *plantarum* ve *L. rhamnosus* kullanılarak süt ve havuç suyu ile probiyotik bir içecek üretmişlerdir. Depolama süresi boyunca örneklerin pH değerleri incelenmiş ve kontrol ve *L. rhamnosus* içeren örneklerin pH değerlerinde düşüş gözlenirken diğer probiyotiklerle hazırlanan örneklerde pH değeri sabit kalmıştır. Sonuçlara bakıldığında örneklerin diğer probiyotik bakterilerle oluşturulan örneklerde tamponlayıcı etkisinin olduğu düşünülmektedir.

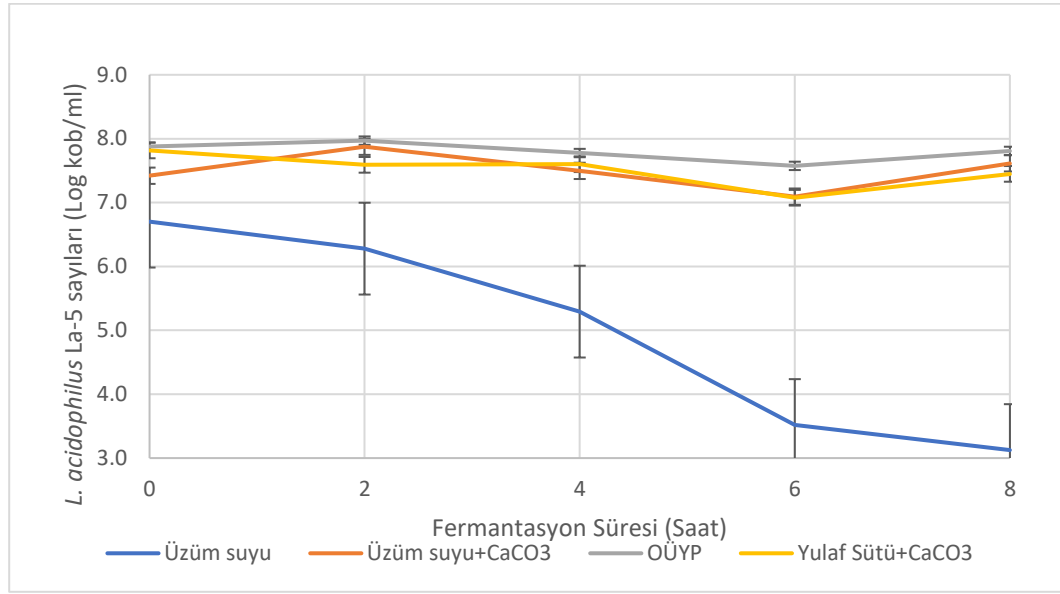
Kockova and Valik (2014) tarafından yapılan araştırmada *L. rhamnosus* GG kullanılarak karabuğday, koyu karabuğday, arpa, yulaf, soya ve nohut unu kullanılarak farklı probiyotik ürünler üretilmiştir. Yapılan çalışmada örnekler 37°C’de 10 saat boyunca fermente edilmiştir. Elde edilen verilerde probiyotik sayısının fermentasyon süresince arttığı ve daha sonra depolama süresince ise

azalma gözlenmediği belirtilmiştir. Depolama süresi sonunda elde edilen verilerde probiyotik sayılarının 7-8 log KOB/ml aralığında olduğu görülmüştür.

Literatür bilgilerine bakıldığında *L. rhamnosus* LGG kültürünün tahıl ürünleri ile hazırlanan örneklerde probiyotik değerinin yapılan çalışma kapsamında elde edilen probiyotik bakteri sayısı ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada Isabella üzümünün düşük pH değeri sebebiyle fermantasyon sonunda probiyotik sayılarında azalma gözlemlenmiştir. Fakat probiyotik sayılarında azalma olmasına rağmen ürünler probiyotik özelliğini fermantasyon sonuna kadar korumuştur. pH verileri incelendiğinde laboratuvar ortamında hazırlanan yulaf sütünün başlangıç pH'ının düşük olması nedeni ile pH değerlerinin sabit kaldığı saptanmıştır. Literatür bilgileri incelendiğinde tahıl ürünleri ile üretilen ürünlerin fermantasyon sonu pH değerlerinin, deneyler sonucunda elde edilen veriler ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

4.7.2 Fermantasyon süresince *L. acidophilus* La-5 sayılarının ve pH değerlerinin belirlenmesi

Optimize edilmiş koşullarda üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ile kalsiyum karbonat (197,35 mg Ca⁺²/100 ml) eklenmiş üzüm suyu (ÜSC), kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyu (ÜS) ve kalsiyum karbonat (197,35 mg Ca⁺²/100 ml) eklenmiş yulaf sütü (YS) kontrol örnekleri *L. acidophilus* La-5 ile 8 saat fermantasyona tabi tutulmuş ve 2 saate bir probiyotik sayımı ve pH kontrolleri yapılmıştır. Yapılan analiz ile fermantasyon boyunca OÜPY ve kontrol grubu örnekler için probiyotiklerin üreme eğrileri oluşturulmuştur. Elde edilen probiyotik üreme eğrileri Şekil 4.36'da verilmiştir.

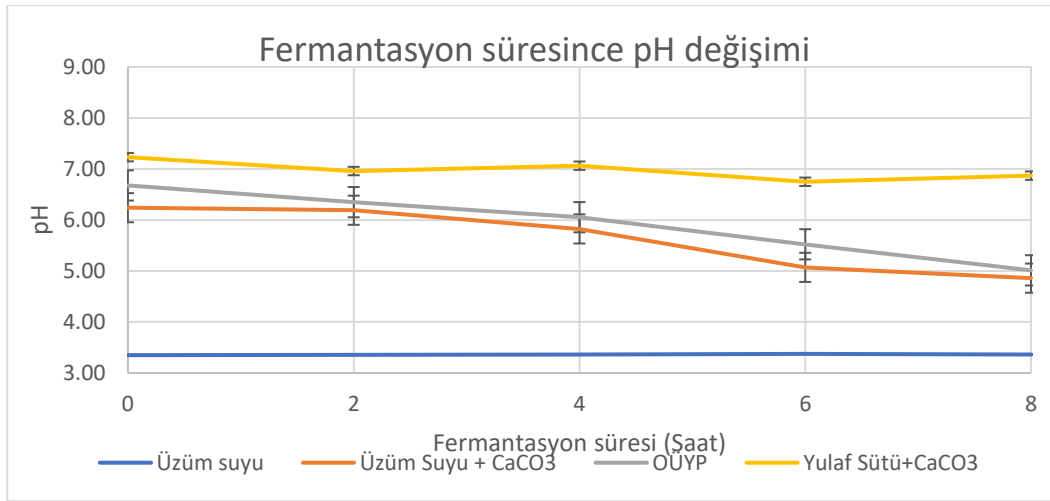


Şekil 4.36. Optimize edilmiş koşullarda üretilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), CaCO₃ içeren/içermeyen üzüm suyu ve yulaf sütü örneklerinde fermantasyon süresince *L. acidophilus* La-5 sayıları

Elde edilen sonuçlara göre *L. acidophilus* La-5 içeren üzüm suyu örneklerinin probiyotik içeriği fermantasyon süresince düşmeye devam etmiş ve fermantasyonun ikinci saatinden sonra 6 log KOB/ml seviyesinin altına düşmüştür. Üzüm suyunun düşük pH değeri *L. acidophilus* La-5 üzerinde inhibe edici etki göstermiş ve 8 saatin sonunda ürün içerisindeki sayısı 3,58 log KOB/ml azalmıştır. Bu proje kapsamında üzüm sularının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda, projenin bu aşamasında kullanılan kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyunun *L. acidophilus* La-5 için MİK değerinin %50 olduğu tespit edilmiştir. Hazırlanan üzüm suyu örneğinin konsantrasyonu %100 olduğu için, *L. acidophilus* La-5'in gelişiminin inhibe olması beklenen bir sonuçtur. Kalsiyum karbonat eklenmiş üzüm suyu örneklerinde ise probiyotik bakteri sayısının 7,45-7,81 log KOB/ml ile 6 log KOB/ml üzerinde kaldığı belirlenmiş ve örnekler probiyotik özelliğini korumuştur. Kalsiyum karbonatın pH düzenleyici etkisi üzüm suyunun pH'ını fermantasyon süresince *L. acidophilus* La-5 için uygun bir duruma getirmiştir. Optimize koşullar ile oluşturulan örneklerde ise fermantasyon süresinin sonunda *L. acidophilus* La-5 sayısı 7,8 log düzeyinde bulunmuş olup, en yüksek sayı bu

üründe tespit edilmiştir. Yulaf sütü kontrol örneklerinde de fermentasyon sonunda probiyotik sayıları istenilen seviyenin (6 log KOB/ml) üzerinde olduğundan dolayı örneklerin probiyotik ürün özelliğini sürdürdüğü tespit edilmiştir.

L. acidophilus La-5 içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ile kontrol grubu olarak CaCO_3 içeren veya içermeyen üzüm suyu ve yulaf sütü örneklerinde fermentasyon süresince ölçülen pH değerleri Şekil 4.37’de verilmiştir.



Şekil 4.37. *L. acidophilus* La-5 içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), CaCO_3 içeren/içermeyen üzüm suyu ve yulaf sütü örneklerinde fermentasyon süresince pH değerleri

Elde edilen sonuçlara göre *L. acidophilus* La-5 eklenen üzüm suyu örneklerinin pH değerlerinde fermentasyon süresince değişiklik olmamıştır, bu örneklerde probiyotik gelişimi de olmadığı için pH değişiminin olmaması beklenen bir sonuçtur. Kalsiyum karbonat eklenen üzüm suyu, optimum koşul ile hazırlanan örnekler ve kalsiyum karbonat eklenen yulaf sütü kontrol grubu örneklerinin pH değerleri fermentasyon süresince düşmüştür. Kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu örneklerinin başlangıç pH değerleri 7,12-7,27 arasında iken fermentasyon sonunda ise pH değerlerinin 4,99-5,49 arasında olduğu gözlemlenmiştir. Optimize edilmiş koşullarda üretilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinin fermentasyon başlangıcında pH'ı 6,20-6,96 ile

başlamış ve fermentasyon sonunda 4,92-5,18 olduğu gözlemlenmiştir. Kalsiyum karbonat eklenen yulaf sütü kontrol örneklerinde ise fermentasyon başlangıcında 7,12-7,32 olan pH değeri fermentasyon sonunda 6,87 olarak belirlenmiştir.

Mokhtari et al. (2019) tarafından yapılan bir araştırmada *L. acidophilus* PTCC 1643 ve *Bifidobacterium bifidum* PTCC 1644 kullanarak probiyotik beyaz üzüm suyu üretilmiş ve başlangıçta 3,8 olan pH değeri *L. acidophilus* için 3,21 ve *B. bifidum* için ise 3,37'ye düşmüştür.

Rathore et al. (2012) tarafından yapılan araştırmada *L. acidophilus* NCIMB 8821 ve *L. plantarum* NCIMB 8826 kullanılarak arpa bazlı probiyotik içecek üretilmiştir. Örnekler 30°C'de 24 saat boyunca fermente edilmiştir. Fermentasyon sonunda bakteri sayısının 7,91 ile 8,69 log KOB/ml arasında olduğu gözlemlenmiştir. Hazırlanan örneklerin pH değerlerinin ise fermentasyon sonunda 5-6 seviyesinden 3,0-3,5 aralığına düştüğü görülmüştür.

Arora et al. (2010) tarafından yapılan araştırmada *L. acidophilus* NCDC-16 eklenerek arpa bazlı probiyotik içecek hazırlanmıştır. Ürünlerin içerisine probiyotikleri desteklemesi amacıyla domates posası ve peynir altı suyu tozu kullanılmıştır. Hazırlanan örnekler 37°C'de 12 saat boyunca fermente edilmiştir. Fermentasyon sonunda elde edilen verilerde probiyotik sayısının 7,75 ve 8,88 log KOB/ml olduğu görülmüştür. pH değerinin ise çimlendirilmemiş arpa için 5,82'den 4,23'e düştüğü, çimlendirilmiş arpa örneklerinde ise 4,90'dan 3,90'a düştüğü belirtilmiştir.

Elde edilen veriler karşılaştırıldığında *L. acidophilus* La-5 içeren üzüm suyu ürünlerinin düşük pH değerlerinden dolayı ürün içerisinde probiyotik sayısında düşüş yaşandığı gözlenmiştir. Yapılan literatür çalışması kapsamında elde edilen verilerde farklı *L. acidophilus* türünün farklı gıdalarda canlılık seviyesinin gıdanın matrisine göre değiştiği belirlenmiştir. Kullanılan *L. acidophilus* La-5 suşunun düşük pH seviyelerinde canlılık seviyesinin düştüğü, fakat pH'ın yükseltilmesi ve tamponlanmasıyla gıda örneklerinin içerisinde yaşamını sürdürebileceği görülmüştür.

4.8 Optimize Edilmiş Koşullarda Üretilen Isabella Üzüm Suyu ile Zenginleştirilmiş Probiyotik Yulaf Sütü İçeceklerinin Fermantasyon Öncesi ve Sonrasında Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

4.8.1 Toplam suda çözünür madde miktarları (°Brix)

Toplam çözünür madde analizleri gıdaların içerisinde bulunan çözünebilir bileşenlerin miktarını belirlemede kullanılmaktadır. Analiz yönteminde, refraktometre ile ışık kırılması yardımı ile ölçümler yapılır. *L. rhamnosus* LGG içeren üzüm suyu, Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%6,74, w/v) örneklerinin fermantasyon öncesi, fermantasyon sonrası ve depolama süresi boyunca 7 günde bir elde edilen °Brix değerleri Tablo 4.47’de gösterilmiştir.

Tablo 4.47. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%6,74, w/v) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası ve depolama süresi boyunca °Brix değerleri

Örnekler	°Brix değerleri					
	Fermantasyon		Depolama			
	Öncesi	Sonrası	7. gün	14. gün	21. gün	28. gün
Üzüm	17,23	17,37	17,23	17,08	17,17	17,13
Suyu	(1,53) ^{aA}	(1,46) ^{aA}	(1,54) ^{aA}	(1,59) ^{aA}	(1,43) ^{aA}	(1,26) ^{aA}
OÜYP	6,62	6,37	6,23	6,13	6,30	6,70
	(0,49) ^{aB}	(0,75) ^{aB}	(0,80) ^{aB}	(0,74) ^{aB}	(0,68) ^{aB}	(0,56) ^{aB}
Yulaf	2,083	2,03	2,07	2,07	2,10	2,07
Sütü	(0,13) ^{aC}	(0,08) ^{aC}	(0,10) ^{aC}	(0,10) ^{aC}	(0,11) ^{aC}	(0,10) ^{aC}

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-C}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

L. rhamnosus LGG içeren kaynatılmış pastörize edilmiş üzüm suyu örneklerinin °Brix değerlerinde fermentasyon ve depolama süresi boyunca istatistiksel olarak anlamlı derecede değişiklik olmadığı gözlemlenmiştir ($P>0,05$). Optimize edilmiş koşullarda üretilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) °Brix değerinin ise depolama süresinin ilk 14 günü boyunca azaldığı; 14. günden sonra ise artış olduğu gözlemlenmiştir, fakat bu artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$). Yulaf sütü ile hazırlanan kontrol grubunda ise °Brix değerinin anlamlı derecede değişmediği ve 2 değerinde sabit kaldığı görülmüştür ($P>0,05$). *L. rhamnosus* LGG ile hazırlanan üzüm suyu, OÜYP ve yulaf sütü örneklerinin kendi içlerinde °Brix değerlerinin birbirinden farklı olduğu saptanmıştır ($P<0,05$).

L. acidophilus La-5 içeren kaynatılmış pastörize edilmiş üzüm suyu, kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu, kalsiyum karbonat içeren yulaf sütü ve Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinin fermentasyon öncesi, fermentasyon sonrası ve depolama süresi boyunca elde edilen °Brix sonuçları ise Tablo 4.48’de gösterilmiştir.

Tablo 4.48. *L. acidophilus* La-5 içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu, kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu ve kalsiyum karbonat içeren yulaf sütü (%5,24, w/v) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası ve depolama süresi boyunca °Brix değerleri

Örnekler	Fermentasyon		Depolama			
	Öncesi	Sonrası	7. gün	14. gün	21. gün	28. gün
Üzüm Suyu	17,37 (1,72) ^{aA}	16,90 (1,58) ^{aA}	17,40 (0,28) ^{aA}	17,10 (0,14) ^{aA}	17,55 (0,35) ^{aA}	17,40 (0,28) ^{aA}
Üzüm Suyu + CaCO ₃	17,87 (1,49) ^{aA}	17,33 (1,49) ^{aA}	17,17 (1,49) ^{aA}	17,23 (1,45) ^{aA}	16,83 (1,33) ^{aA}	16,97 (1,46) ^{aA}
OÜYP	5,37 (0,24) ^{aB}	5,23 (0,24) ^{aB}	5,23 (0,24) ^{aB}	5,17 (0,19) ^{aB}	5,17 (0,15) ^{aB}	5,13 (0,10) ^{aB}
Yulaf Sütü	1,00 (0) ^{aC}	1,00 (0) ^{aC}	1,00 (0) ^{aC}	1,00 (0) ^{aC}	1,00 (0) ^{aC}	1,00 (0) ^{aC}

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-C}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

L. acidophilus La-5 içeren örneklerin °Brix değerleri incelendiğinde, kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyu örneklerinde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir (P>0,05). Kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu örneklerinde °Brix değerleri fermentasyon ve depolama süresince azalırken depolamanın 14. gününde artış gözlemlenmiştir, fakat bu artış anlamlı olarak değerlendirilmemiştir (P>0,05). Optimum koşul ile hazırlanan örneklerde ise °Brix değerleri fermentasyon ve depolama süresi boyunca azalmıştır fakat anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir (P>0,05). Yulaf sütü örneklerinde ise °Brix değerleri 1 olarak fermentasyon ve depolama süresi boyunca sabit kalmıştır. *L. acidophilus* La-5 içeren örneklerin °Brix değerlerine bakıldığında kalsiyum karbonat içeren ve içermeyen üzüm suyu örneklerinin °Brix değerleri arasında fark görülmemesine rağmen diğer örneklerin hepsi anlamlı olarak birbirinden farklı olduğu saptanmıştır (P<0,05).

Salmeron et al. (2015) tarafından yapılan araştırmada *L. acidophilus* NCIMB 8821, *L. plantarum* NCIMB ve *L. reuteri* NCIMB 11951 kullanılarak fermente tahıl ieeği geliştirilmiştir. Fermente edilen yulaf rnlerinin °Brix değerleri *L. acidophilus* NCIMB 8821 için $0,60 \pm 0,02$, *L. plantarum* NCIMB için $0,64 \pm 0,04$ ve *L. reuteri* NCIMB 11951 için ise $0,39 \pm 0,01$ olduğu gözlemlenmiştir.

Sharma et al. (2017) tarafından yapılan araştırmada *L. acidophilus* NCDC 291 ve *L. bulgaricus* NCDC 304 kullanılarak protein tozu ve yulaf içeren fonksiyonel bir gıdanın, 15 günlük depolama sonunda bütün örneklerin °Brix değerlerinin arttığı ve başlangıç değerinden yüksek olduğu saptanmıştır. Asadzadeh et al. (2020) tarafından yapılan araştırmada ise *Bifidobacterium lactis* kullanılarak yulaf içerikli probiyotik fonksiyonel ieeğin üretiminde 72 saatlik fermantasyon süresince °Brix değerinde azalma görülürken depolama sürecinin 7. gününde °Brix değerinde artış gözlemlenmiştir. Depolama sürecinin devamında ise °Brix değeri azalmaya devam etmiştir. Yapılan araştırmada probiyotik bakterilerin fermantasyon ve depolama süresi boyunca gıda matrisinin içerisinde bulunan şeker gibi besin bileşiklerini tüketmesi ile °Brix miktarının düşebileceğini belirtmişlerdir.

Elde edilen veriler kapsamında her iki probiyotik türü ile üretilen ürünlerde fermantasyon ve depolama süresi boyunca °Brix değerlerinin değişmediği grlmştir. Yapılan literatür çalışmasına elde edilen verilerde °Brix değerinin fermantasyon ve depolama süresince artabileceği ve azalabileceği gözlemlenmiştir. rn içerisinde bulunan karbonhidrat gibi besin içeriklerinin parçalanmasıyla Brix değerlerinde düşüş olabileceği gibi elde edilen metabolitlerle de °Brix değerinin artabileceği belirlenmiştir.

4.8.2 Toplam kuru madde miktarları

Toplam kuru madde analizi 105°C'lik etüvlerde örneklerin kurutulmasıyla hazırlanmıştır. *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 suşu ile ayrı ayrı hazırlanan Isabella zm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü ieeği (OPY), yulaf sütü ve üzüm suyu örneklerinin fermantasyon öncesi ve sonrası

elde edilen toplam kuru madde içeriği sonuçları sırasıyla Tablo 4.49 ve Tablo 4.50’de verilmiştir.

Tablo 4.49. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası toplam kuru madde içeriği

Örnek	Kuru madde miktarı (%)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
Yulaf Sütü	5,9245 (0,8461) ^{aA}	5,6759 (0,3261) ^{aA}
OÜYP	9,3431 (0,6869) ^{aB}	8,7891 (0,3647) ^{aB}
Üzüm Suyu	15,3278 (1,3919) ^{aC}	15,6395 (1,1118) ^{aC}

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-C}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Yapılan analizde *L. rhamnosus* LGG kültürü ile hazırlanan yulaf sütü ve üzüm suyu kontrol örneklerinin, Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin toplam kuru madde miktarlarında fermentasyon sonunda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmemiştir (P>0,05). Yapılan analizlerde yulaf sütü kontrol örneklerinin toplam kuru madde miktarı fermentasyon öncesinde %5,92 iken fermentasyon sonunda %5,67 olarak görülmüştür. Üzüm suyu kontrol örneklerinin toplam kuru madde miktarı fermentasyon öncesinde %15,32 iken, fermentasyon sonunda %15,63 olduğu saptanmıştır. Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği için toplam kuru madde miktarı ise fermentasyon öncesinde %9,34 iken fermentasyon sonunda %8,78’e düşmüştür. Toplam kuru madde miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılıklar bulunmaktadır (P<0,05).

Tablo 4.50. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%5,24 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası toplam kuru madde içeriği sonuçları

Örnek	Kuru madde miktarı (%)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
Yulaf Sütü+CaCO ₃	3,3470 (0,281) ^{aA}	3,9469 (0,095) ^{bA}
OÜPY	8,8273 (2,227) ^{aB}	7,4782 (1,853) ^{aB}
Üzüm Suyu+CaCO ₃	15,7608 (1,135) ^{aC}	15,6277 (1,087) ^{aC}

^{a-b}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-C}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

L. acidophilus La-5 ile hazırlanan yulaf sütü örneklerinde toplam kuru madde miktarı fermentasyon süresince istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır (P<0,05). Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği ve üzüm suyu örneklerinin toplam kuru madde içeriği fermentasyon boyunca azalmıştır, ancak bu değişimlerin anlamlı bir farklılık göstermediği saptanmıştır (P>0,05).

Literatür bilgileri incelendiğinde, Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin kuru madde içeriğinin yapılan diğer çalışmalarla benzer olduğu tespit edilmiştir. El-Hameed et al. (2019) tarafından yapılan araştırmada %2 ve %4 (w/w) oranında yulaf unu içeren fermente yağlı süt örneğinde yapılan araştırmada, %2 yulaf unu içeren örneklerin toplam kuru madde içeriği %9,82 olarak; %4 yulaf unu içeren örneklerin toplam kuru madde oranı ise %9,94 olarak hesaplanmıştır. Wang et al. (2018) tarafından yapılan araştırmada yulaf unu kullanılarak simbiyotik yulaf bazlı içecek hazırlanmıştır. Ürün hazırlanırken örnekler laktik asit bakterileri ile fermente edilmiş ve hazırlanan içeceğin besin içeriği belirlenmiştir. Yapılan analizlerde hazırlanan

yulaf bazlı simbiyotik ieeğın toplam kuru madde miktarının %11,65 olduğu saptanmıştır.

Luana et al. (2014) tarafından yapılan çalışmada yulaf taneleri ile yoğurt benzeri fermente yulaf ieeği üretilmiştir. Kullanılan yulaf tanelerinin toplam kuru madde içeriğinin %9,8 olduğu belirtilmiştir. Elde edilen farklı kültürler ile hazırlanan içeceklerin toplam kuru madde içeriğinin ise %22 olduğu görülmüştür.

İsrigova et al. (2020) tarafından yapılan çalışmada, Isabella zm suyunun toplam kuru madde içeriğinin %21,3 olduğu belirlenmiştir. Choi et al. (2006) tarafından yapılan araştırmada yabani üzümlerden üzüm suyu ve şarap üretilmiştir. Elde edilen örneklerin besin içerikleri kontrol edilmiştir ve üzüm suyu örneklerinin kuru madde içeriğinin %21,3 olduğu bulunmuştur. Bu proje çalışması kapsamında kullanılan üzüm sularının kuru madde içeriğinin ise literatürde verilen değerlerden düşük olduğu saptanmıştır. Isabella zmnn toplam kuru madde içeriğinin literatür verilerinden farklı olmasının sebebinin üzüm sularının üretim yöntemindeki farklılıklar ile üzümün yetiştirildiği koşullar ve jeolojik konumundan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

4.8.3 Kül miktarları

Kül analizi AOAC (2000)'ın belirlediği yönteme göre 550°C'lik kül fırınında yapılmıştır. *L. rhamnosus* LGG içeren örneklerin kl içeriği Tablo 4.51'de gösterilmiştir. Kül analizi yulaf sütü ve üzüm suyu kontrol örnekleri ile Isabella zm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü ieeğine (OPY) uygulanmıştır. *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan kalsiyum karbonat içeren yulaf sütü ve üzüm suyu kontrol örnekleri ile yapılan kl analizleri sonuçları Tablo 4.52'de verilmiştir.

Tablo 4.51. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası kül analizi sonuçları

Örnek	Kül miktarı (%)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
Yulaf Sütü	0,0358 (0,0094) ^{aA}	0,0452 (0,0088) ^{aA}
OÜYP	0,1347 (0,0228) ^{aA}	0,1324 (0,0170) ^{aA}
Üzüm Suyu	0,4424 (0,0673) ^{aB}	0,4755 (0,1069) ^{aB}

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-B}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Yapılan analizlerde yulaf sütü içeceğinin ve kontrol grubu örneklerin kül miktarının fermentasyon öncesi ve sonrası değerlerinde anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir (P>0,05). Bunun yanında Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği ve yulaf sütü örnekleri arasında kül miktarları arasında istatistiksel farklılık tespit edilmezken (P>0,05), üzüm suyundaki kül miktarları istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (P<0,05),

L. acidophilus La-5 ile hazırlanan kalsiyum karbonat içeren yulaf sütü ve üzüm suyu kontrol örnekleri ile yapılan kül analizlerine ait sonuçlar Tablo 4.52’de verilmiştir.

Tablo 4.52. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%5,24 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası kül içerikleri sonuçları

Örnek	Kül miktarı (%)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
Yulaf Sütü	0,1124 (0,075) ^{aA}	0,4225 (0,112) ^{bA}
OÜPY	0,4734 (0,111) ^{aB}	0,4797 (0,121) ^{aB}
Üzüm Suyu	1,0290 (0,259) ^{aC}	0,9221 (0,150) ^{aC}

^{a-b}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-C}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Yapılan analizlerde *L. acidophilus* La-5 ile üretilen kalsiyum karbonat içeren yulaf sütü içeceğinin kül miktarının fermentasyon başlangıcında %0,11 olduğu, fermentasyon sonunda ise %0,42'ye arttığı saptanmıştır (P<0,05). Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin (OÜPY) sonuçlarına göre fermentasyon başında %0,47 olan kül içeriğinin fermentasyon sonunda da aynı düzeyde olduğu görülmüştür (P>0,05). Isabella üzümü ile yapılan kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu kontrol örneklerinin kül değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık gözlemlenmemiştir (P>0,05).

Yapılan araştırmalarda yulaf sütü içeceğinin kül oranının %0,14 olduğu gözlemlenmiştir (Wang et al., 2018). Hassan et al. (2012) tarafından yapılan araştırmada farklı tahıllar ile tahıl bazlı ürün kombinasyonları hazırlanmıştır. Ürünler içerisinde kullanılan kahverengi pirincin kül değeri %1,38, darının kül değeri ise %1,95 olarak bulunmuştur. Bahsi geçen tahıllar örnekler hazırlanırken kullanılmış ve elde edilen ürünlerin kül değerleri tekrar incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda fermente edilmeyen ürünlerin kül değerleri %0,08-0,09 aralığında elde edilmesine rağmen fermente edilmiş ürünlerde kül değerlerinin %0,23-0,25'e

yükseldiği görülmüştür. Bu artışın, fermentasyon süresince probiyotik mikroorganizmaların ürettiği metabolitlerden kaynaklanabileceğini belirtilmiştir.

Gokavi et al. (2005) tarafından yapılan araştırmada üretilen yulaf bazlı simbiyotik içeceğin besin değerleri kontrol edilmiş ve kül miktarının %0,071 olduğu belirtilmiştir. Literatürde belirtilen farklı makalelerde ise *L. acidophilus* NCDC-14 ile hazırlanan farklı tahıl bazlı örneklerin kül miktarlarının %0,10 olduğu belirtilmiştir (Schwan and Ramos, 2019).

Von Dorsten et al. (2010) tarafından yapılan araştırmada üzüm suyu ve şarap örneklerinde kül içeriğinin şarap için %1,91 ve üzüm suyu için ise %0,94 olduğu belirtilmiştir. Moser et al. (2017) tarafından yapılan araştırmada ise kullanılan üzüm suyunun %0,43 seviyesinde kül içeriği olduğu belirtilmiştir. Mota et al. (2017) tarafından yapılan araştırmada farklı üzümlerin kül içerikleri kontrol edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda Isabella üzümünün kül miktarının 3,1 g/L olduğu belirtilmiştir.

Yapılan literatür araştırması ile elde edilen veriler karşılaştırıldığında, laboratuvar ortamında üretilen yulaf sütünün fermentasyon sonunda kül içeriğinin yükseldiği saptanmıştır. Kül miktarındaki artışın sebebi probiyotikler tarafından fermentasyon süresince üretilen metabolitlerden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Isabella üzümünden elde edilen üzüm suyunun kül miktarı incelendiğinde ise literatür değerleriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Isabella üzüm suyu elde edilirken kabuğunun üzüm suyu içerisine dahil edilmediği için kül miktarı literatürde belirtilen üzümün kül miktarından düşük olduğu bulunmuştur.

4.8.4 β -Glukan testi

Optimizasyon işlemi sonucunda elde edilen verilere bağlı olarak hazırlanan yulaf sütleriyle (*L. rhamnosus* LGG için %6,74 (w/v)) kontrol örnekleri ve Design Expert yardımıyla elde edilen optimize koşullar ile hazırlanan yulaf sütlerinin fermentasyon başında ve sonunda β -glukan değişimi incelenmiş ve analizler

sonucunda *L. rhamnosus* LGG içeren optimize ve sade yulaf sütü örnekleri için elde edilen veriler Tablo 4.53'te gösterilmiştir.

Tablo 4.53. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%6,74, w/v) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası β -glukan miktarları

Örnek	β -glukan Miktarı (g/100 ml)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
Yulaf Sütü	0,0099 (0,0007) ^{aA}	0,0065 (0,0008) ^{bB}
OÜYP	0,0094 (0,0002) ^{aA}	0,0092 (0,0012) ^{aA}

^{a-b}: Aynı satır içerisindeki farklı küçük harfler istatistiksel açıdan anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05)

^{A-B}: Aynı sütun içerisindeki farklı büyük harfler istatistiksel açıdan anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Elde edilen değerlere bağlı olarak *L. rhamnosus* LGG ile hazırlanan üzüm suyu içermeyen yulaf sütü örneklerinin β -glukan içeriği 24 saatlik fermentasyon sonunda istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlenmiştir (P<0,05). %25 (w/v) üzüm suyu içeren optimum koşullar ile hazırlanan örneklerinin β -glukan içeriğinde ise 24 saatlik fermentasyon sonunda anlamlı bir azalma olmadığı saptanmıştır (P>0,05). Örnekler birbiri ile karşılaştırıldığında fermentasyon öncesinde anlamlı bir farklılık görülmemiş (P>0,05), fakat fermentasyon sonunda anlamlı bir farklılık saptanmış ve yulaf sütünün fermentasyon sonrası β -glukan içeriğinin daha az olduğu belirlenmiştir (P<0,05).

Optimizasyon işlemi sonucunda elde edilen verilere bağlı olarak hazırlanan yulaf sütüyle (*L. acidophilus* La-5 için %5,24 (w/v) oranında) elde edilen kontrol örnekleri ve optimize koşullar ile hazırlanan yulaf sütlerinin fermentasyon süresi başında ve sonunda β -glukan değişimi incelenmiş ve analizler sonucunda *L.*

acidophilus La-5 içeren optimize ve sade yulaf sütü örnekleri için elde edilen veriler Tablo 4.54'te gösterilmiştir.

Tablo 4.54. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü (%5,24 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi ve sonrası β -glukan miktarları

Örnek	β -glukan Miktarı (g/100 ml)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
Yulaf Sütü	0,0069 (0,0008) ^{aB}	0,0076 (0,0009) ^{aA}
OÜYP	0,0084 (0,0007) ^{aA}	0,0071 (0,0036) ^{aA}

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-B}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Elde edilen değerlere bağlı olarak *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan üzüm suyu içermeyen yulaf sütü örneklerinin β -glukan içeriği 8 saatlik fermentasyon sonunda anlamlı derecede değişmediği gözlemlenmiştir (P>0,05). Fakat, *L. acidophilus* La-5 eklenerek %24,99 (w/v) üzüm suyu içeren optimum koşullar ile hazırlanan örneklerinin 8 saatlik fermentasyon süresinin sonunda β -glukan miktarının azaldığı gözlemlenmiştir, fakat bu azalma istatistiksel açıdan önemli düzeyde değildir (P>0,05). Örnekler birbiri ile karşılaştırıldığında fermentasyon başında yulaf sütünün β -glukan miktarının Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinden anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür (P<0,05). Fermentasyon sonunda ise β -glukan içeriklerinde anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir (P>0,05).

L. acidophilus 145, *B. infantis* 420, *B. longum*, *L. acidophilus* La-5, *B. bifidum* Bb-12 ve *L. rhamnosus* LGG ile yapılan araştırmada β -glukan kullanımı incelenmiştir (Jaskari et al., 1998). *L. acidophilus* için 24 saatlik fermentasyon

süresince ortalama β -glukan kullanımı %17 iken, *Bifidobacterium* türleri için 72 saat fermentasyon süresince β -glukanın ortalama %4'ü kullanılmıştır. *L. rhamnosus* LGG ise 24 saatlik fermentasyon süresince β -glukanın %70'ini kullandığı gözlemlenmiştir. Bernat et al. (2015) tarafından yapılan araştırmada, yulaf sütü örnekleri *L. reuteri* ATCC 55730 ve *St. thermophilus* CECT 986 ile fermente edilmiştir. Fermentasyon öncesinde üretilen yulaf sütlerinde β -glukan miktarı 0,241 g/100 g olarak bulunmuştur. Fermentasyon sonunda ise β -glukan miktarı %17 azalmış ve 0,199 g/100 g olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan araştırmada probiyotik bakterilerin önce inülini tükettiği ve β -glukanı tercih etmediği düşünülmektedir.

Yapılan literatür araştırmasına bağlı olarak bu projede elde edilen veriler kıyaslandığında, *L. rhamnosus* LGG suşunun üzüm suyu olmayan ortamda β -glukanı tüketerek canlılığını devam ettirdiği gözlemlenmiştir. Optimum koşullar sağlandığında ise β -glukanda %15,5 azalma olmasına rağmen anlamlı bir azalma gözlemlenmediği için, β -glukanı sindirmediği varsayılmıştır. *L. acidophilus* La-5 suşu için yulaf sütü içerisindeki β -glukan miktarı fermentasyon sonunda değişmemiştir, ancak optimum koşullar sağlandığında %10,9 azalma gözlemlenmiştir.

4.8.5 Diyet lif analizi

Diyet lif analizi AOAC 985.29 yöntemine göre A&T Gıda Laboratuvarı'ndan hizmet alımı ile yaptırılmıştır. Yapılan analizde Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) fermentasyon başında ve sonunda analiz edilmiş ve sonuçlar g/100 g cinsinden verilmiştir. Hazırlanan örneklerin fermentasyon başı ve fermentasyon sonu alınan örneklerin diyet lifi analiz sonuçları Tablo 4.55'te verilmiştir.

Tablo 4.55. *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinin toplam diyet lifi analizi sonuçları

Örnek	Diyet lifi miktarı (g/100 g)	
	Fermantasyon Öncesi	Fermantasyon Sonrası
<i>L. rhamnosus</i> LGG	1,5050 (0,27) ^{aA}	1,4300 (0,20) ^{aA}
<i>L. acidophilus</i> La-5	1,9125 (0,26) ^{aA}	1,7000 (0,19) ^{aA}

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^A: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Yapılan analizlerde *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin (OÜPY) sonuçlarına göre fermantasyon başında %1,91 olan diyet lifi içeriğinin fermantasyon sonunda %1,70 olduğu görülmüştür fakat bu değişim anlamlı olarak belirlenmemiştir (P>0,05). *L. rhamnosus* LGG ile üretilen örneklerde ise diyet lifi miktarı %1,50'den %1,43'e düşmüştür fakat bu azalmada da anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir (P>0,05).

Wang et al. (2018) tarafından yapılan araştırmada, yulaf sütünün diyet lif içeriği %0,70 olarak bulunmuştur. İnsan sağlığına faydası, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türü bakterilerin gelişimini destekleyen diyet liflerinin kabuğu soyulmuş yulaf tanelerinde %12 civarında olduğu belirtilmiştir (Fernandes et al., 2020). Tahıl bazlı ürünlerin diyet lifi, vitamin ve mineraller açısından destek olabilecek potansiyel bir ürün olduğu düşünülmektedir. Ayrıca diyet lif içeriği fazla olan tahıl ürünlerinin *L. rhamnosus* için iyi bir probiyotik taşıyıcısı olduğu ve metabolit üretmeye yardımcı bir besin bileşimi içerdiği belirtilmiştir (Waters et al., 2015).

Schwan and Ramos (2019) tarafından hazırlanan derleme makalesinde farklı tahıllar ile üretilen probiyotik tahıl bazlı içeceklerde diyet lifi oranlarının %0,4

olduğu belirtilmiştir. Lambo et al. (2005) tarafından arpa ile yapılan bir araştırmada fermantasyon sonrasında diyet liflerinin %58,8 değerinden %38,0 değerine düştüğü, yulaf örneklerinde ise başlangıçta %26 diyet lif içeriğinin fermantasyon sonunda %4 olduğu rapor edilmiştir. Russo et al. (2016) tarafından yapılan araştırmada yulaf unu kullanılarak yulaf bazlı probiyotik bir ürün geliştirilmiştir. Deney süresince kullanılacak olan yulaf ununun diyet lif içeriğinin %7,1 olduğu belirtilmiştir. Casarotti et al. (2018) tarafından yapılan analizde ise guava, çarkıfelek ve portakal gibi yoğun lifli meyvelerle üretilen örneklerin diyet lifi içeriğinin %58-89 olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerin yüksek lif içeriği nedeniyle probiyotikleri destekleyici ürünler olabileceği öne sürülmüştür.

Zhang et al. (2016) tarafından yapılan araştırmada üzüm suyu üretiminden sonra atık olarak ayrılan üzüm posasının diyet lif içeriği incelenmiş ve elde edilen sonuçlarda üzüm kabuklarının %51,70'inin çözünür olmak üzere, toplam %57,24 oranında diyet lifi içerdiği belirtilmiştir. Karnopp et al. (2017) tarafından yapılan araştırmada da üzüm suyu üretiminden ayrılan atık üzüm kabuğu ve üzüm posası (çekirdek ve kabuk) incelenmiştir. Elde edilen verilerde *Vitis labrusca* L. cv. Bordeaux cinsi üzümün kabuklarının %55,84, üzüm posasının ise %51,02 çözünmeyen diyet lif içerdiği bulunmuştur.

Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği oluşturulurken üzüm suyunun posası ayrılarak ürünler hazırlanmıştır. Bu sebeple kabuğunda bulunan diyet lifleri kaybedilmiştir. Fakat çözünebilir diyet lifleri yulaftan gelen diyet lif miktarını arttırarak daha fazla diyet lif içeren bir ürün oluşturulmasını sağlamıştır. Fermantasyon sonunda diyet lif miktarının azalması ise içerisinde bulunan probiyotik bakterilerin diyet lifini kullanmasından kaynaklanmaktadır.

4.8.6 Protein analizi

Yapılan protein analizi gıda örneklerinin içerisindeki protein miktarını belirlemek amacıyla Kjeldahl yöntemi kullanılmıştır. Hazırlanan örneklerin

fermantasyon öncesi ve sonrasında alınan analiz sonuçları *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 için sırasıyla Tablo 4.56 ve Tablo 4.57’de verilmiştir.

Tablo 4.56. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası protein analizinin sonuçları

Örnek	Protein miktarı (%)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
Yulaf Sütü	0,8604 (0,088) ^{aA}	0,8421 (0,059) ^{aA}
OÜPY	1,0682 (0,056) ^{aB}	1,0548 (0,088) ^{aB}

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-B}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Tablo 4.57. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%5,24 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası protein analizi sonuçları

Örnek	Protein miktarı (%)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
Yulaf Sütü	0,6429 (0,074) ^{aA}	0,6952 (0,043) ^{aA}
OÜPY	0,8875 (0,099) ^{aB}	0,8863 (0,079) ^{aB}

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-B}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Yapılan analiz sonuçları değerlendirildiğinde, *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş yulaf sütü içeceğinde ve kontrol grubu olarak yulaf sütü örneklerinde fermentasyon

süresince protein miktarının değişmediği saptanmıştır ($P>0,05$). Ayrıca yapılan deneylerde Isabella üzümü ile hazırlanan üzüm suyunun protein içeriğinin $0,516\pm0,141$ olduğu belirlenmiştir. Karnopp et al. (2017) tarafından yapılan araştırmada üzüm kabuğu ve üzüm posasında yapılan protein analizlerinde *Vitis labrusca* L. cv. Bordeaux türü üzümü ile yapılan üzüm suyunun atıkları kullanılmıştır. Elde edilen verilerde üzüm kabuğunun protein içeriğinin %9,83 olduğu, üzüm posasının ise %11,44 olduğu bulunmuştur. Yapılan bu proje çalışmasında ise, üzüm suyu içerisindeki protein oranı %0,52 bulunmuştur. Üzüm suyu örnekleri hazırlanırken kabukları ayrıldığı için bu sebeple protein miktarında düşüş olduğu düşünülmektedir. *L. rhamnosus* LGG ile hazırlanan örnekte protein miktarının %0,84 olduğu, içerisine Isabella üzümü ile hazırlanan üzüm suyu eklendiğinde protein miktarının %1,05'e yükseldiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda üzüm suyunun yulaf sütü ile kombine edilmesi protein miktarında artışa neden olabileceği görülmüştür.

Protein ve diğer makro/mikro bileşenleriyle iyi bir besin kaynağı olan yulafın kabuk soyma işleminden sonra elde edilen tanesinde protein oranı %15-17 aralığında olmaktadır (Fernandes et al., 2020). Gokavi et al. (2005) tarafından yapılan araştırmada, *L. plantarum*, *L. paracasei* ssp. *casei* ve *L. acidophilus* ile %0,5 oranında peynir altı suyu tozu proteini ilave edilerek yulaf bazlı fermente içecek üretilmiştir. Hazırlanan örneğin fermantasyon sonrasındaki protein oranının %0,89 olduğu belirlenmiştir.

Zhang et al. (2007) tarafından yapılan analizde kullanılan sıvı yulafın protein içeriği %1 oranında olduğu belirtilmiştir. Sethi et al. (2016) tarafından yapılan derleme çalışmasında yulaf örneklerinin protein içeriğinin %11-15 aralığında olduğu belirtilmiştir. Yulaf ürünleri yüksek fonksiyonel içeriğine sahip olup yüksek diyet lifi ve uygun seviyelerde protein içermektedir (Ashaolu, 2020).

Elejalde et al. (2021) tarafından yapılan derleme makalesinde üzümlerin protein içeriğinin %0,72 olduğu belirtilmiştir. Tangolar et al. (2009) tarafından yapılan araştırmada farklı üzüm türlerinin çekirdeklerinde bulunan protein

miktarları verilmiş ve protein miktarlarının %7,48-16,71 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen veriler literatür bilgisiyle karşılaştırıldığında protein içeriği yüksek olan yulafın laboratuvar ortamında yulaf sütüne dönüştürülmesi sonucunda protein miktarında azalma saptanmıştır. Literatürde bulunan yulaf sütü içeceklerinin protein seviyesi incelendiğinde ise elde edilen ürünün protein seviyesinin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür. Yulaf sütü içerisine üzüm suyu eklenmesinin örneklerin protein miktarını arttırdığı saptanmıştır. Bu artış Isabella üzümünde bulunan protein miktarının yulaf sütünün protein miktarına katkı sağlayarak elde edilmiştir.

4.8.7 Yağ analizi

Optimize edilmiş koşullarda üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceklerinin üretiminde kullanılan yulaf ezmelerinin yağ oranı belirlenmiştir. Analiz kapsamında hazırlanan örneklerin içerisinde bulunan yağ miktarları çok az olduğundan yulaf sütünün hazırlanmasında kullanılan yerel marketlerden alınan yulaf ezmesinin yağ içeriği kontrol edilmiştir. Bu proje kapsamında yapılan yağ analizi ile elde edilen sonuçlar neticesinde çalışmada kullanılan yulaf ezmesinin yağ içeriğinin %2,18 (0,35) olduğu bulunmuştur. Elde edilen yağ değeri, çalışma kapsamında kullanılan yulaf ezmesinin etiketinde belirtilmiş olan besin içeriği tablosundaki %6 yağ oranının altında kalmıştır. Zhou et al. (1999) tarafından yapılan araştırmada yulaf tanelerinin yağ oranı incelenmiş ve yapılan hekzan ekstraksiyonu sonucunda yulaf tanelerinin %5,57 yağ oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Liu et al. (2020) tarafından yulaf kepeği ile yapılan araştırmada, yulaf kepeklerinin yağ oranının %12,76 olduğu saptanmıştır. Grundy et al. (2018) yayınladığı makalede yulaf tanelerinin yağ bileşenlerinin yulafın kepeğinde daha yoğun olduğunu belirtmiştir. Yulaf taneleri toplandıktan sonra kepek kısımları soyulmakta ve tadının geliştirilmesi, mikrobiyal aktivitenin önlenmesi ve acılaşmanın gecikmesi için ısıtılma işlemine tabi tutulmaktadır (Stebbins, 2018). Masiá et al. (2020) tarafından yapılan araştırmada ise yulaf konsantresinin yağ içeriğinin %2,2 olduğu belirtilmiştir.

Elde edilen literatür bilgisine ve yulaf ezmesinin üretim prosesine bağlı olarak yağ oranının %6 oranından az olması beklenen bir sonuçtur.

Elde edilen yulaf ezmesinin yağ içeriğine bağlı olarak yapılan hesaplamalarda *L. rhamnosus* LGG ile oluşturulan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinde %0,11, *L. acidophilus* La-5 ile oluşturulan örneklerde ise %0,09 yağ içerdiği belirlenmiştir.

4.8.8 Toplam karbonhidrat analizi

Hazırlanan örneklerin karbonhidrat içeriği toplam kuru madde miktarından protein, yağ, kül ve diyet lif sonuçları çıkarılarak bulunmuştur. Hesaplamalar sonucunda elde edilen karbonhidrat içeriği miktarları *L. rhamnosus* LGG için Tablo 4.58’de, *L. acidophilus* La-5 için Tablo 4.59’da verilmiştir.

Tablo 4.58. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası karbonhidrat içeriği sonuçları

Örnek	Karbonhidrat miktarı (%)	
	Fermantasyon Öncesi	Fermantasyon Sonrası
Yulaf Sütü	4,9909 (0,843) ^a	4,7667 (0,329) ^a
OÜPY	6,6424 (0,697) ^a	6,4781 (0,356) ^a
Üzüm Suyu	13,9875 (1,384) ^a	14,2662 (1,111) ^a

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Tablo 4.59. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%5,24 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası karbonhidrat hesaplaması sonuçları

Örnek	Karbonhidrat miktarı (%)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
Yulaf Sütü	2,3737 (0,311) ^a	2,6112 (0,192) ^a
OÜPY	4,4713 (0,612) ^a	4,1943 (1,744) ^a
Üzüm Suyu	13,8340 (1,298) ^a	13,8078 (1,117) ^a

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Yapılan hesaplamalar sonucunda yulaf sütü ve üzüm suyu örneklerini karbonhidrat değerlerine diyet lif içeriği dahildir. *L. rhamnosus* LGG içeren örneklerde fermentasyon öncesi değerleri sırasıyla %4,99 ve %13,98, fermentasyon sonrası değerleri ise %4,76 ve %14,26 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlarda Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinin diyet lifi içermeyen karbonhidrat içeriği fermentasyon öncesi değeri %6,64 ve fermentasyon sonrası değeri ise %6,47 olarak hesaplanmıştır. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü örneklerinde fermentasyon öncesi değerleri %4,47 ve %2,33 olarak, fermentasyon sonrası değerleri ise %4,19 ve %2,61 olarak hesaplanmıştır. Kalsiyum karbonat eklenmiş üzüm suyu örneklerinde ise fermentasyon öncesi karbonhidrat değeri %13,83, fermentasyon sonrası değeri ise %13,81 olarak hesaplanmıştır. Yapılan deneyde her iki bakteri için de fermentasyon öncesi ve fermentasyon sonrası değerlerinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (P>0,05). Elde edilen sonuçlar ile Isabella üzümü eklenen örneklerin yüksek şeker içeriği nedeniyle, Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örneklerinde şeker miktarını arttırdığı görülmüştür.

Yapılan literatür taramasında kavuzundan ayrılmış yulaf tanesinin karbonhidrat içeriğinin %59-70 aralığında değiştiği bulunmuştur (Fernandesa et al., 2020). Kavuzu ayrılmamış yulaf tanesinin karbonhidrat içeriğinin ise %53-65,8 aralığında değiştiği belirtilmiştir (Vasquez Orejarena, 2016). Gokavi et al. (2005) tarafından yapılan analizde yulaf bazlı örneklerin karbonhidrat miktarının %7,56 olduğu belirtilmiştir. Bernat et al. (2015) tarafından yapılan araştırmada %8 (w/w) oranında yulaf içeren probiyotik yulaf içeceği yapmıştır ve üretilen ürünün şeker profili belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda ürün içerisinde bulunan glikoz miktarının fermentasyon sonunda 7,7 g/L olduğu, fruktoz miktarının 7,1 g/L olduğu ve sükroz miktarının ise 0,74 g/L olduğu saptanmıştır.

Gobilik ve Enggihon (2019) tarafından yapılan analizde Isabella üzümünün şeker oranı 18,5 °Brix değeri olarak verilmiştir. Da Silva et al. (2015) tarafından yapılan analizlerde ise olgunlaşmış üzüm suyunun şeker içeriği değerlerinin 23 °Brix olduğu belirtilmiştir. Mota et al. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, Isabella üzümünün karbonhidrat içeriğinin 118,1 g/L olduğu, Isabella üzümü ile yapılan üzüm suyunda toplam karbonhidrat miktarının 123,80 g/L olduğu bulunmuştur.

Elde edilen veriler incelendiğinde yulaf sütünün daha düşük oranlarda hazırlanması sonucunda literatür verilerinde daha düşük karbonhidrat içerdiği saptanmıştır. Örneklerin büyük bir bölümünün suyla oluşturulması örnek içerisindeki karbonhidrat miktarında düşüşe neden olmuştur. Isabella üzümü ile yapılan çalışmada karbonhidrat miktarının literatür çalışmaları ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Üzüm suyunun karbonhidrat içeriğindeki artış veya azalışların üzümün yetiştiği iklim, yetiştirme yerine ve topraktan aldığı besine göre değişiklik gösterdiği düşünülmektedir.

4.8.9 Su tutma kapasitesi analizi

L. rhamnosus LGG eklenerek hazırlanan yulaf sütü ve Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinin su tutma kapasitesi ayrılan suyun tartılması ile hesaplanmıştır ve elde edilen sonuçlar Tablo

4.60'ta gösterilmiştir. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği için yapılan su tutma kapasitesi analizi sonuçları Tablo 4.61'de verilmiştir.

Tablo 4.60. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası su tutma kapasitesi sonuçları

Örnek	Su tutma kapasitesi (%)				
	0. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
Yulaf Sütü	64,07 (0,66) ^{abA}	65,11 (0,73) ^{aA}	58,23 (4,09) ^{cA}	60,11 (1,87) ^{cA}	61,04 (3,74) ^{bcA}
OÜPY	49,35 (1,44) ^{aB}	47,74 (1,93) ^{aB}	48,26 (2,95) ^{aA}	47,34 (1,44) ^{aA}	44,21 (2,97) ^{bA}

^{a-b}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-C}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Tablo 4.61. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinde fermantasyon öncesi, sonrası su tutma kapasitesi sonuçları

Örnek	Su tutma kapasitesi (%)				
	0. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
OÜPY	42,77 (1,56) ^b	39,36 (1,78) ^c	38,85 (1,84) ^c	43,30 (2,34) ^{ab}	44,97 (0,67) ^a

^{a-b}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

L. rhamnosus LGG içeren örneklerin depolama süresince yapılan analizler sonucu elde edilen yulaf sütü verilerinde 0. ve 7. günde su tutma kapasitesi değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemişken (P>0,05), 7. gün ve 14.

gün arasında anlamlı bir değişiklik olmuştur ($P<0,05$). 14. gün, 21. gün ve 28. gün örnekleri arasında da anlamlı bir fark görülmemiştir ($P>0,05$). Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örneklerinin sonuçlarında 21. güne kadar su tutma kapasitesi değerlerinde anlamlı bir farklılık olmamasına rağmen ($P>0,05$) 28. günde su tutma kapasitesinde anlamlı bir azalma belirlenmiştir ($P<0,05$).

L. acidophilus La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin depolama süresince elde edilen sonuçlara göre 7. günde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma tespit edilmiştir ($P<0,05$). 7. gün ve 14. gün arasında anlamlı bir fark görölmezken, su tutma kapasitesinin 21. günde arttığı ($P<0,05$), 21. gün ve 28. gün aralığında ise anlamlı bir değişiklik olmadığı kaydedilmiştir ($P>0,05$).

Yapılan bir çalışmada, farklı probiyotik mikroorganizmalarla üretilmiş probiyotik yulaf içeceklerinin su tutma kapasitelerinin %48-67 aralığında değişmekte olduğu rapor edilmiştir (Luana et al., 2014). Ürünlerin farklı mikroorganizmalar ile hazırlandığında farklı su tutma kapasitesi sonuçları verdiği tespit edilmiştir. Aparicio-Garcia et al. (2020) tarafından yapılan analizde çimlendirilmiş yulaf ile fermente içecek üretilmiştir. Yapılan analizlerde oluşturulan ürünün su tutma kapasitesinin %34,93 olduğu görölmüştür.

Depolama süresi boyunca su tutma kapasitesi ve ürünün viskozitesi depolama süresince değişebilmektedir (Gokavi et al., 2005). Yapılan analiz sonuçlarına bağlı olarak anlamlı farklılıklar göz önünde bulundurulursa depolama süresi boyunca su tutma kapasitesi de değişebilmektedir. Elde edilen verilerin, literatür çalışmaları ile karşılaştırıldığında uyumlu olduğu saptanmıştır.

4.8.10 Renk analizi

Renk analizleri, *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 eklenerek hazırlanan örneklerin tamamına Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Enstrümantal Gıda Laboratuvarında bulunan Hunter cihazıyla fermantasyon

öncesi ve fermentasyon sonrası yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar *L. rhamnosus* LGG için Tablo 4.62’de ve *L. acidophilus* La-5 için Tablo 4.63’te gösterilmiştir.

Tablo 4.62. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve yulaf sütü (%6,74 (w/v)) örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası renk analizi sonuçları

Örnek		Renk Değerleri	
		Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
Yulaf Sütü	L*	68,1467 (2,194) ^a	68,7278 (1,437) ^a
	a*	-1,0378 (0,356) ^a	-0,9383 (0,180) ^a
	b*	9,7139 (0,895) ^a	9,9628 (0,533) ^a
	ΔE^*	68,85 (2,28) ^a	69,45 (1,43) ^a
Üzüm Suyu	L*	15,5561 (3,876) ^a	16,3613 (4,025) ^a
	a*	16,8555 (1,778) ^a	17,0447 (2,404) ^a
	b*	-1,0989 (0,333) ^a	-1,0893 (0,510) ^a
	ΔE^*	23,05 (3,71) ^a	23,78 (3,86) ^a
OÜPY	L*	30,1539 (1,430) ^a	30,7911 (1,088) ^a
	a*	16,8433 (2,668) ^a	19,3011 (3,224) ^a
	b*	-4,9341 (2,197) ^a	-3,6456 (1,920) ^a
	ΔE^*	34,97 (2,67) ^a	36,64 (2,23) ^a

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

L. rhamnosus LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), yulaf sütü (%6,74, w/v) ve üzüm suyu örneklerinde L*, a* ve b* değerleri fermentasyon sonunda yükselmiş ve ürünlerde renk değişimi olmuştur. Fermente edilen örneklerin rengi fermentasyon prosesinden önce oluşturulan örnek renklerinden daha koyu olduğu gözlemlenmiştir. Ancak, yapılan istatistiksel analizler ile bu artışların anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (P<0.05). Yapılan analizlerde ürün içerisindeki üzüm

suyu miktarı arttıkça L* değerlerinde düşüş gözlemlenmiştir. L* değerinin düşüşünün ürünün kırmızılığının artması ile ters orantılıdır. Örneklerin sarılık değerleri (b*) ise yulaf sütünde en yüksek, Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin ise en düşük değerlere sahip olduğu görülmüştür.

Tablo 4.63. *L. acidophilus* La-5 suşu ile hazırlanan yulaf sütü örneklerinin fermantasyon başında ve sonunda elde edilen renk değişimi sonuçları

Örnek		Renk Değerleri	
		Fermantasyon Öncesi	Fermantasyon Sonrası
Yulaf Sütü	L*	67,2533 (0,846) ^a	71,9425 (1,587) ^b
	a*	-1,4333 (0,142) ^a	-0,4100 (0,539) ^b
	b*	10,3692 (1,536) ^a	12,1275 (1,388) ^a
	ΔE*	68,08 (0,95) ^a	72,96 (1,78) ^b
Üzüm Suyu + CaCO ₃	L*	11,5733 (2,332) ^a	11,4038 (3,347) ^a
	a*	7,4407 (4,735) ^a	9,7006 (3,507) ^a
	b*	-0,4733 (2,912) ^a	-0,9333 (2,706) ^a
	ΔE*	14,52 (3,26) ^a	15,51 (3,48) ^a
OÜPY	L*	28,3050 (3,068) ^a	30,1528 (2,674) ^a
	a*	3,8372 (1,228) ^a	7,2250 (1,765) ^b
	b*	3,1183 (0,849) ^a	-0,0161 (1,058) ^b
	ΔE*	28,75 (3,18) ^a	31,07 (2,64) ^a

^{a-b}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Elde edilen sonuçlarda OÜPY örneklerinde L* değerinde artış görülmüş, üzüm suyu örneklerinde ise değişim görülmemiş olmakla birlikte, her iki örnek için de istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmamıştır (P>0,05). Yulaf sütünün L* değeri incelendiğinde ise, anlamlı bir artış görülmüştür (P<0,05). a* değerleri incelendiğinde bütün örneklerde yükselme görülmüş ve yulaf sütü ile OÜYP

örneklerinde kırmızılık derecesinin anlamlı derecede arttığı saptanmıştır ($P<0,05$). b^* değerlerine bakıldığında ise üzüm suyu ve OÜPY örneklerinde azalma görülmüş fakat yulaf sütü örneklerinde ise artış saptanmıştır. Elde edilen sonuçlarda üzüm suyunun ve yulaf sütünün b^* değeri anlamlı olarak değişmemiş ($P>0,05$) fakat OÜYP örneğinin b^* değerinin anlamlı olarak düştüğü görülmüştür ($P<0,05$).

Bernat et al. (2015) tarafından yapılan araştırmada, %8 (w/w) yulaf sütü içeren probiyotik yulaf sütü içeceğinin renk değişimleri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda L^* değerlerinin fermentasyon öncesinde 68,8 fermentasyon sonrasında ise 69,9 olduğu görülmüştür. a^* değerlerinin -0,4 değerinden -0,67 olduğu; b^* değerinin ise 14,1 değerinden 13,43 değerine değiştiği belirtilmiştir.

Demirkol and Tarakci (2018) tarafından yapılan analizlerde Isabella posasının kurutulması ile üzüm posası tozu üretilmiştir. Elde edilen üzüm posası tozu yoğurt içerisine katılarak biyoaktif yoğurt üretilmiştir. Yapılan analizlerde depolamanın farklı günlerinde renk ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen örneklerde depolama süresi boyunca renk değerleri yükselmiştir. Yapılan analizlerde üzüm suyu posası tozu oranı arttıkça L^* ve b^* değerlerinde düşüş gözlemlenmiştir.

Dimitrellou et al. (2021) tarafından yapılan araştırmada gernik (kavılca buğdayı) ile üzüm suyu karıştırılarak probiyotik bir içecek hazırlanmıştır. Yapılan araştırmada depolama süresince renk değerleri incelenmiş ve 0. ve 1. gün arasında L^* , a^* ve b^* değerlerinde artış gözlemlenmiştir. Meyve sularının içerdiği antosiyanin miktarının ürünün rengi etkileyen faktör olduğu belirtilmiştir. Araştırmada belirtilen örneklerin depolama süresi boyunca renk açıklığı (lightness) değerleri artmıştır.

Elde edilen veriler incelendiğinde yulaf sütü örneklerinin renk değerleri yapılan literatür çalışmaları ile uyumlu olduğu görülmüştür. Yapılan farklı çalışmalarda üzüm suyunun içerdiği antosiyaninler ile yulaf sütünün renginin değişebileceği belirtilmiş ve örneklerde bulunan üzüm suyu miktarı değiştikçe örneklerdeki L^* ve b^* değerlerinde düşüş saptanmıştır. Fakat üzüm suyunun

içerdiği antosiyaninler sebebi ile üzüm suyu içeren örneklerdeki renk değişimi beklenen bir sonuçtur.

4.8.11 Fenolik madde ve antioksidan aktivite analizi

Toplam fenolik madde analizi spektrofotometrik bir yöntem olan Folin-Ciocalteu yöntemine göre üzüm suyu ve Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerine yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.64 ve Tablo 4.65'te gösterilmiştir.

Tablo 4.64. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve üzüm suyu örneklerinde fermentasyon öncesi ve sonrası toplam fenolik madde miktarı

Örnek	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/L)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
OÜPY	366,7708 (129,523) ^a	322,3958 (91,505) ^a
Üzüm Suyu	2242,5000 (676,234) ^a	2147,4000 (577,575) ^a

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Tablo 4.65. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve üzüm suyu örneklerinde fermentasyon öncesi ve sonrası toplam fenolik madde miktarı

Örnek	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/L)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
OÜPY	326,2500 (149,8254) ^a	361,2500 (88,346) ^a
Üzüm Suyu+CaCO ₃	1988,0000 (329,109) ^a	1690,9375 (321,802) ^a

^{a-b}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Yapılan analizler sonucunda *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve üzüm suyu örneklerinin fermentasyon öncesi ve sonrasında fenolik madde miktarlarında bir değişiklik gözlemlenmemiştir ($P>0,05$). *L. acidophilus* La-5 ile oluşturulan örneklerin ise Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinde fermentasyon öncesi ve sonrasında önemli bir değişiklik görülmemişken ($P>0,05$), kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu örneklerinde ise anlamlı bir artış saptanmıştır ($P<0,05$).

DPPH yönteminden yararlanılarak yapılan antioksidan aktivite analizi, üzüm suyu ve Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerine yapılmıştır. Antioksidan aktivitesi sonuçları *L. rhamnosus* LGG için Tablo 4.66'da *L. acidophilus* La-5 için ise Tablo 4.67'de gösterilmiştir.

Tablo 4.66. *L. rhamnosus* LGG içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve üzüm suyu örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası antioksidan aktivite sonuçları

Örnek	Antioksidan Aktivite (%)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
OÜPY	40,8680 (11,580) ^a	31,0956 (9,734) ^a
Üzüm Suyu	216,4171 (31,172) ^a	218,3907 (28,303) ^a

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir ($P<0,05$).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Tablo 4.67. *L. acidophilus* La-5 ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve üzüm suyu örneklerinde fermentasyon öncesi, sonrası antioksidan aktivite sonuçları

Örnek	Antioksidan Aktivite (%)	
	Fermentasyon Öncesi	Fermentasyon Sonrası
OÜPY	39,9846 (10,621) ^a	52,7045 (17,465) ^b
Üzüm Suyu+CaCO ₃	206,0503 (69,704) ^a	244,6928 (67,060) ^a

^{a-b}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Elde edilen veriler kapsamında *L. rhamnosus* LGG ile hazırlanan örneklerin antioksidan aktivite değerler incelendiğinde Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinde fermentasyon sonunda azalma gerçekleşmiştir. Üzüm suyu örneklerinde ise fermentasyon sonunda artış görülmüştür. Fakat elde edilen veriler karşılaştırıldığında örneklerin fermentasyon sonrası antioksidan aktivitesi değişiminin anlamlı olmadığı saptanmıştır (P>0,05). *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan örneklerde fermentasyon sonunda antioksidan aktivitelerinde artış gözlemlenmiştir. Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinde fermentasyon sonunda anlamlı bir artış görülmesine rağmen (P<0,05) kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu örneklerinde fermentasyon sonrası antioksidan aktivite artışının anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir (P>0,05).

Elde edilen verilerde *L. acidophilus* La-5 ve *L. rhamnosus* LGG suşları karşılaştırıldığında fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitelerinde *L. rhamnosus* LGG suşu için değişiklik görülmemişken, *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan üzüm suyu örneklerinde ciddi artışlar söz konusu olmuştur. Burns et al. (2001) tarafından yapılan çalışmada fermentasyona bırakılan şarapların fenolik içeriği ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Fermentasyon süresi boyunca fenolik içeriklerinin oturduğu ve belirli bir seviyede izlediği, antioksidan aktivitesinin ise fermentasyonun son zamanlarına doğru yükseldiği belirtilmiştir.

Mammadova et al. (2020) tarafından yapılan bir araştırmada farklı üzümlerin işlendikten sonra kalan posasının yoğurtlara eklenmesiyle örneklerde fenolik madde içeriklerinin değişkenliği kontrol edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda %4 ekleme yapılan örneklerde fenolik madde miktarının 305,60 mg/kg olduğu görülmüştür. Yapılan depolama süresince fenolik madde miktarı ilk 10 güne azalmış sonraki 10 günde ise artış göstermiştir. Arcanjo et al. (2017) tarafından yapılan araştırmada ise Isabella üzümü ile Ives üzümü birleşiminden elde edilen şaraplarda fenolik madde içeriği kontrol edilmiştir. Elde edilen verilerde fenolik madde içeriğinin 830-837 mg kateşin/L olarak belirlenmiştir. Ayrıca yapılan araştırmada şarapların antioksidan aktivitesinin ise 40,78-45,60 μ M TE/ml olduğu görülmüştür. Elde edilen veriler literatür verileri ile karşılaştırıldığında probiyotik eklenerek üretilen Isabella üzüm suyunun fenolik madde bileşiminin Isabella üzümü ile üretilen şaraplardan daha yüksek antioksidan aktivite ve fenolik madde içerdiği belirlenmiştir.

4.8.12 Optimize edilmiş koşullarda üretilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin (OÜPY) besin içeriği

L. rhamnosus LGG veya *L. acidophilus* La-5 ile fermente edilerek üretilmiş Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinin besin içeriği ve probiyotik sayıları Tablo 4.68’de özetlenmiştir.

Tablo 4.68. *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 eklenerek hazırlanan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinin besin içeriği

Besin Bileşeni (g/100 g)	<i>L. rhamnosus</i> LGG	<i>L. acidophilus</i> La-5
Yağ	0,11	0,09
Protein	1,06	0,88
Karbonhidrat	6,47	4,19
Diyet lifi	1,43	1,70
Kül	0,13	0,48
Kuru Madde	8,78	7,47
β -glukan	0,0092	0,0071
Toplam fenolik madde (mg GAE/L)	322,3958	361,2500
Antioksidan aktivite (%)	31,0956	52,7045
Fermantasyon sonu probiyotik sayısı	8,14 log KOB/ml	7,81 log KOB/ml
	6,53 log KOB/ml	6,35 log KOB/ml
Depolama süresince probiyotik sayısı	(21 günlük depolama)	(14 günlük depolama)

4.9 Probiyotik Yulaf Sütü İçeceğinin Depolanması

4.9.1 Depolama süresince *L. rhamnosus* LGG sayılarının belirlenmesi

Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü kontrol örneklerine *L. rhamnosus* LGG ile 37 °C’de 24 saat fermantasyon işlemi uygulanarak üretim gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünler 4 °C’de 28 gün depolanmış ve depolama süresince 7 günde bir probiyotik bakteri sayıları belirlenmiştir. Üzüm suyu ve yulaf sütü kontrol örnekleri ile optimum koşul ile oluşturulan örnek (OÜPY) için fermantasyon öncesi, fermantasyon sonrası ve depolama süresince *L. rhamnosus* LGG sayıları Tablo 4.69’da gösterilmiştir.

Tablo 4.69. 28 günlük depolama süresi boyunca *L. rhamnosus* LGG sayıları

Örnek	<i>L. rhamnosus</i> LGG sayısı (log KOB/ml)				
	0. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
OÜPY	8,60 (0,71) ^{aA}	8,29 (0,17) ^{abA}	7,83 (0,51) ^{bA}	6,53 (0,30) ^{cA}	4,53 (0,32) ^{dA}
Üzüm suyu	7,25 (0,54) ^{aB}	5,37 (1,07) ^{bB}	3,18 (0,79) ^{cB}	2,70 (0,68) ^{cdB}	1,93 (0,21) ^{dB}
Yulaf Sütü	8,54 (0,12) ^{aA}	8,32 (0,11) ^{abA}	8,04 (0,17) ^{bA}	7,35 (0,06) ^{cC}	6,48 (0,34) ^{dC}

^{a-d}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-C}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Depolama süresi boyunca Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), üzüm suyu ve yulaf sütü kontrol örneklerinde probiyotik sayılarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı gözlemlenmiştir (P<0,05). Üzüm suyu kontrol örnekleri için depolamanın 7. gününde probiyotik sayısının 6 log KOB/ml'nin altına düştüğü gözlemlenmiştir. Design Expert 7.0.0 programı ile belirtilen optimum koşul ile oluşturulan örneklerin 21. güne kadar probiyotik özelliğini koruduğu fakat 28. günde 6 log KOB/ml'nin altına düştüğü için örneklerin probiyotik özelliğini kaybettiği gözlemlenmiştir. Düşük pH seviyesi probiyotik bakteriler için olumsuz koşul oluşturmuş ve probiyotik bakteri sayısında azalmaya neden olmuştur (Shah, 2000). Yulaf sütü örnekleri ise 28 günlük depolama süresi boyunca probiyotik özelliğini muhafaza etmiştir. Benzer olarak Angelov et al. (2006) tarafından yapılan çalışmada, farklı probiyotik ve yulaf konsantrasyonları (%4, 5,5, 7) ile probiyotik içerikli yulaf içeceği üretilmiştir. Yapılan bütün kombinasyonlar ile yulaf sütü içeceklerinin 4°C'de ortalama 21 gün probiyotik özelliğini koruyabileceği tespit edilmiştir.

Bernat et al. (2015) tarafından yapılan çalışmada, yulaf sütü örnekleri *L. reuteri* ve *St. thermophilus* ile fermente edilmiş ve probiyotik sayıları kontrol

edilmiştir. 28 günlük depolama sürecinin sonunda sayıların *L. reuteri* için 7,43 log KOB/ml ve *St. thermophilus* için 7,63 log KOB/ml olduğu gözlemlenmiştir.

Ravindran and RadhaiSri (2020) tarafından yapılan araştırmada mikrokapsülasyon uygulanmış *L. plantarum* ile çilek ve baharat içerikli yulaf sütü içeceği hazırlanmış olup, fermentasyon sonunda $2,5 \times 10^8$ ve $2,3 \times 10^8$ KOB/mL düzeyindeki probiyotik sayısının 14 gün boyunca korunduğu belirtilmiştir. Bu sebeple probiyotik yulaf sütü örneklerinin çeşitli hastalıklara ve tercihlere sahip insanlar için alternatif bir ürün olabileceği düşünülmektedir.

Masiá et al. (2020) tarafından yapılan araştırmada *L. rhamnosus* LGG ve *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 suşları ile %30 (w/w) yulaf ile hazırlanan içecek örneğinin 6°C'de depolama süresi boyunca probiyotik sayısı kontrol edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda 21 günlük depolama süresi boyunca probiyotik sayısının 7-9 log KOB/ml aralığında olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda yulaf sütü örneklerinde probiyotik sayısının çalışma kapsamında kullanılan soya ve Hindistan cevizi örneklerinden daha fazla olduğu belirlenmiştir. Daha fazla olmasının sebebinin ise yulafta yüksek miktarda bulunan basit karbonhidratların (glikoz) soya ve Hindistan cevizi örneklerinden daha fazla olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir.

Elde edilen veriler *L. rhamnosus* LGG suşu içeren yulaf sütü örneklerinin 21. güne kadar probiyotik özelliğini koruduğu görülmüştür. Yapılan literatür araştırmasında probiyotik tahıl bazlı içeceklerin içerdiği karbonhidratlar ile probiyotikleri desteklediği görülmüş ve ürünlerin en az 14 gün boyunca probiyotik özelliğini koruduğu belirtilmiştir (Masiá et al., 2020; Ravindran and RadhaiSri, 2020). Yapılan çalışma kapsamında yulaf sütü örnekleri 28 gün boyunca probiyotik özellik gösterirken, Isabella üzüm suyu eklenen örneklerde 21 gün probiyotik özelliğini korumuştur. Üzüm suyunun içerisinde bulunan karbonhidrat miktarının ve pH değerinin düşük olması kültürlerin ürün içerisinde canlı kalabilmesini zorlaştırdığı düşünülmektedir.

4.9.2 Depolama süresince *L. acidophilus* La-5 sayılarının belirlenmesi

Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu, sade üzüm suyu ve yulaf sütü kontrol örnekleri *L. acidophilus* La-5 kullanılarak 37 °C’de 8 saat fermentasyona tabi tutulmuştur. Fermentasyon öncesinde, fermentasyon sonrasında ve 4 °C’de 28 gün boyunca depolanan örneklerde 7 günde bir *L. acidophilus* La-5 sayımı yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu örnekleri, OÜPY ve yulaf sütü kontrol örnekleri için Tablo 4.70’te verilmiştir. Kalsiyum karbonat içermeyen üzüm suyu örnekleri fermentasyon sonunda probiyotik özellik göstermediği için 2. ve 3. üretimler depolanmamıştır.

Tablo 4.70. 28 günlük depolama süresi boyunca *L. acidophilus* La-5 sayıları

Örnek	<i>L. acidophilus</i> La-5 sayısı (log KOB/ml)				
	0. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
OÜPY	7,81 (0,36) ^{aA}	7,24 (0,37) ^{aA}	6,34 (0,23) ^{bA}	5,01 (0,59) ^{cA}	3,77 (0,29) ^{dA}
Üzüm suyu+CaCO ₃	7,61 (0,08) ^{aAB}	5,29 (0,83) ^{bB}	3,74 (0,25) ^{bcB}	3,09 (0,97) ^{cB}	2,25 (1,95) ^{cB}
Yulaf Sütü+CaCO ₃	7,44 (0,01) ^{aAB}	3,65 (0,44) ^{bC}	1,61 (0,49) ^{cC}	1,42 (0,14) ^{cC}	1,85 (0,08) ^{cB}

^{a-c}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-C}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

28 günlük depolama sonucu elde edilen sonuçlara göre *L. acidophilus* La-5 içeren örneklerin probiyotik sayısının depolama süresi boyunca istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır (P<0,05). Kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu ve yulaf sütü kontrol grubu örneklerinde depolamanın 7. gününde probiyotik bakteri sayısının 6 log KOB/ml altına düştüğü tespit edilmiştir. Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örneklerinin 14. güne kadar probiyotik seviyesinin istenilen düzeyde kaldığı belirlenmiş ve örnekler

probiyotik özelliğini 2 hafta boyunca korumuştur. Optimizasyon uygulamaları probiyotik içerikli gıdaların oluşturulmasında sıklıkla kullanılan sistemlerden sayılmaktadır. Zaman tasarrufu ile beraber probiyotik ürünlerin içerisinde bulunan bakterilerin gıda matrisinde yaşayabilmesi için en uygun koşulların sağlanmasına olanak tanımaktadır. Elde edilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin optimizasyonunda eklenen Isabella üzüm suyunun antimikrobiyal etki göstermemiş olması ve besin desteği sağlamasının yanında probiyotik bakteriler için en uygun besin içeriği belirlenmiştir. Fakat üzüm suyu ve yulaf sütü kontrol örnekleri ayrı ayrı hazırlandığında probiyotik bakterilerin depolama süresince 7. güne kadar bile istenen sayıda canlılığını koruyamadığı gözlemlenmiştir.

Helland et al. (2004) tarafından yapılan bir araştırmada *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium animalis* BB12 ve *Lactobacillus rhamnosus* LGG kullanılarak mısır ve pirinç unu içeren tahıl bazlı su ve süt içerikli puding üretimi yapılmıştır. 37°C’de 12 saat fermentasyon ve 4°C’de 21 günlük depolama süreci sonunda süt ile yapılan karışımlarda tüm bakteriler gelişim gösterip, canlılığını sürdürebilirken; su bazlı pudinglerde *Lactobacillus acidophilus* La-5 canlılığını sürdürememiş ve sıfıra yaklaştığı belirtilmiştir (1–2 log KOB/g). Fakat *Lactobacillus rhamnosus* LGG gelişim göstermiştir. Arslan-Tontul and Erbaş (2020) tarafından yapılan araştırmada *L. acidophilus*, *B. bifidum* ve *Saccharomyces boulardii* ile boza üretimi gerçekleştirmişlerdir. Fermentasyon başlangıcında örnekler 9 log KOB/ml kültür ilave edilmiştir. Yapılan araştırma kapsamında boza örneklerini 37°C’de 24 saat fermente etmişlerdir. Fermentasyon sonunda örnekler 4°C’de 12 gün boyunca depolanmıştır. Depolamanın son gününde yapılan probiyotik sayımında *Lactobacillus acidophilus* sayısının 7,92 log KOB/g olduğu görülmüştür. Yapılan araştırmada şeker ilavesinin *L. acidophilus*’un canlılığını destekleyebileceği belirtilmiştir. Bu sebeple üretilen simbiyotik gıdaların probiyotik bakterilere uygun olması gerektiği belirtilmiştir (Tripathi and Giri, 2014).

Yapılan çalışma sonucunda elde edilen veriler, literatür araştırmaları ile karşılaştırıldığında yulaf sütünün su ile hazırlanmasının *L. acidophilus* La-5 suşu

için uygun bir ortam oluşturmadığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmada yulaf sütünün tek başına *L. acidophilus* La-5 üzerinde etkisi fazla olmamasına rağmen, içerisine Isabella üzümü suyu katıldığında probiyotiklerin 14. güne kadar canlı kaldığı saptanmıştır. Üretilen ürünlerde üzüm suyu eklenmesiyle ürünün besleyiciliği artmış ve probiyotik *L. acidophilus* La-5 suşu için uygun bir ortam oluşturmuştur.

4.9.3 Depolama süresince pH ve titrasyon asitliği değerlerinin belirlenmesi

4.9.3.1 *L. rhamnosus* LGG içeren örneklerde depolama süresince pH ve titrasyon asitliği değerlerinin belirlenmesi

Hazırlanan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve kontrol örnekleri *L. rhamnosus* LGG ile 24 saat fermentasyona tabi tutulduktan sonra ve 4 °C’de 28 gün boyunca depolanmıştır. Depolama süresi boyunca her hafta örneklerin pH ve titrasyon asitliği değerleri tespit edilmiştir. Örneklerin fermentasyon öncesi, sonrası ve depolama süresince ölçülen pH değerleri Tablo 4.71’de gösterilmiştir.

Tablo 4.71. Depolama süresi boyunca *L. rhamnosus* LGG ile üretilen örneklerin pH değerleri

Örnek	pH değerleri				
	0. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
OÜPY	3,34 (0,05) ^{aA}	3,41 (0,05) ^{abA}	3,46 (0,05) ^{bcA}	3,48 (0,03) ^{bcA}	3,53 (0,03) ^{cA}
Üzüm suyu	3,37 (0,09) ^{aA}	3,37 (0,08) ^{aA}	3,39 (0,06) ^{aA}	3,44 (0,06) ^{aA}	3,49 (0,08) ^{aA}
Yulaf Sütü	4,48 (0,07) ^{aB}	4,56 (0,02) ^{abB}	4,63 (0,06) ^{bcB}	4,69 (0,04) ^{cB}	5,02 (0,07) ^{dB}

^{a-d}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-B}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Hazırlanan üzüm suyu ve yulaf sütü kontrol grubu ve optimum koşul ile hazırlanan örneklerin pH değeri depolama süreci boyunca yükselmiştir. Üzüm suyu örnekleri için pH depolama süresince istatistiksel açıdan anlamlı fark belirlenmemiştir ($P>0,05$). Yulaf sütü kontrol örnekleri için ise pH değeri 4,40-4,53 değerlerinden 4,97-5,09 değerine yükselmiş olup, 14. günden sonra pH değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Optimum koşul örnekleri (OÜPY) için ise pH 3,29-3,37 değerleri ile başlamış, depolama sonunda pH 3,49-3,55 değerlerine yükselmiştir. 14. günden sonra pH değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Benzer olarak, Okina et al. (2018) tarafından yapılan araştırmada *L. paracasei* ile yeşil üzüm suyu hazırlanmış ve 28 günlük depolama süresi boyunca pH değeri kontrol edilmiştir. Depolama süresinin başlangıcında pH değeri 3,496 iken 28 günlük depolama sonunda pH değerinin 3,516 olduğu saptanmıştır. Dimitrellou et al. (2021) tarafından yapılan araştırmada gernik (kavılca buğdayı) ve üzüm suyu ile *L. plantarum* 2035 kullanılarak probiyotik bir ürün geliştirilmesi amaçlanmıştır. Fermantasyon başında 5,61 olan pH değeri 2 saatlik fermantasyon süresinin sonunda 4,15'e düşmüştür. 4°C'de 28 gün boyunca depolanmış olan örneklerde ise pH değeri düşmeye devam etmiş ve 3,38 olduğu görülmüştür.

L. rhamnosus LGG içeren örneklerinin fermantasyon öncesi, fermantasyon sonrası ve 4 °C'de 28 günlük depolama süresi boyunca titrasyon asitliği değerleri Tablo 4.72'de verilmiştir.

Tablo 4.72. Depolama süresi boyunca *L. rhamnosus* LGG ile üretilen örneklerde titrasyon asitliği değişimleri

Örnek	Titrasyon asitliği (g/L)				
	0. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
OÜPY	4,93 (0,34) ^{abA}	5,52 (0,15) ^{cA}	4,68 (0,39) ^{aA}	5,40 (0,15) ^{bcA}	5,46 (0,28) ^{bcA}
Üzüm suyu	8,35 (0,34) ^{aB}	7,59 (0,65) ^{aB}	6,89 (1,29) ^{aB}	7,49 (0,69) ^{aB}	7,28 (0,51) ^{aB}
Yulaf Sütü	0,36 (0,09) ^{aC}	0,41 (0,09) ^{abC}	0,53 (0,08) ^{bcC}	0,58 (0,07) ^{bcC}	0,60 (0,09) ^{cC}

^{a-c}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-C}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

L. rhamnosus LGG eklenerek hazırlanan yulaf sütü ve optimum koşullar ile hazırlanan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ile hazırlanan örneklerin titre edilebilir asitlik değerinde fermantasyon süresince anlamlı bir artış tespit edilmiştir (P<0,05). Fakat üzüm suyu ile yapılan analizde titre edilebilir asitlik değerleri depolama süresi boyunca anlamlı bir fark yaratmamıştır (P>0,05). Yan et al. (2019) tarafından yapılan çalışmada, *L. rhamnosus* LGG kültürü ile 37°C’de 24 saat fermantasyon işlemi uygulanarak yabanmersini kabuğu suyu üretilmiştir. Elde edilen örneklerde titre edilebilir asit miktarının %14 olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada titrasyon asitliğinin değerinin gıda matrisinin içerisinde bulunan şeker cinsine göre değişebileceğini belirtmişlerdir. 28 saatlik fermantasyon başında örneklerde ölçülen toplam titre edilebilir asitlik değeri %3’ten fermantasyon sonunda %16’ya yükselmiştir. Afzaal et al. (2020) tarafından yapılan çalışmada *B. bifidum* kullanılarak üzüm suyu üretilmiş ve 35 günlük depolama sürecine tabi tutulmuştur. Depolama süreci başında 3 mg/L olan titrasyon asitliği miktarı depolama süresi boyunca probiyotik üzüm suyu içermeyen örneklerde de arttığı (2 mg/L) fakat probiyotik üzüm suyu içeren örneklerde bu artışın daha fazla olduğu saptanmıştır (7 mg/L). Enkapsüle edilerek eklenen probiyotik ürünlerin ise asitlik değerleri serbest hücre içeren

örneklere göre daha az olduğu tespit edilmiştir (6 mg/L). Hassan et al. (2012) tarafından yapılan araştırmada ise pirinç ve darı sütlerine balkabağı ve susam sütü eklenerek probiyotik bir ürün oluşturulmuştur. Probiyotik olarak ürünlerde *S. thermophilus*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* BB-12 kullanılmıştır. Hazırlanan örnekler 37°C’de 16 saat fermente edilmiş ve depolama süreci başlatılmıştır. Depolama süresi boyunca pH değeri düşerken asitlik değerinin ise arttığı belirlenmiştir. Yapılan araştırmada susam sütü ve balkabağı sütü eklenmeyen pirinç ve darı örneklerin pH değeri depolama süresi sonunda 4,42 ve 4,32 olduğu görülmüş ve titre edilebilir asitlik değerlerinin ise %0,54 ve %0,56 olduğu saptanmıştır. Örneklere susam sütü ve balkabağı sütü eklendikten sonra ise örneklerin depolama başlangıç pH’ının ise 5,30 ve 5,29 olduğu, titre edilebilir asitlik değerlerinin ise %0,32 ile %0,31 olduğu görülmüştür. Depolama süresince örneklerin titre edilebilir asitlik değerleri ise yükselmiştir. Elde edilen sonuçlar ve literatür karşılaştırıldığında üzüm suyunda ve yulaf sütlerinde elde edilen titrasyon asitliği değerinin literatür ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

4.9.3.2 *L. acidophilus* La-5 içeren örneklerde depolama süresince pH ve titrasyon asitliği değerlerinin belirlenmesi

Optimizasyon ile elde edilen koşul örnekleri, kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu örnekleri ve sade üzüm suyu ve yulaf sütü kontrol örnekleri hazırlandıktan sonra, *L. acidophilus* La-5 kültürü ilave edilerek, 37 °C’de 8 saat fermentasyon işlemi uygulanmıştır. Fermentasyon sonunda, örnekler 4 °C’de 28 gün depolanmış ve depolama süresince 7 günde bir pH ve titrasyon asitliği değerleri belirlenmiştir. Örneklerin fermentasyon öncesi, sonrası ve depolama süresince ölçülen pH değerleri Tablo 4.73’te verilmiştir. Kalsiyum karbonat içermeyen üzüm suyu örnekleri fermentasyon sonunda yeterli sayıda probiyotik bakteri içermediği için depolama sürecine tabi tutulmamıştır.

Tablo 4.73. Depolama süresi boyunca *L. acidophilus* La-5 içeren probiyotik ürünlerin pH değerleri

Örnek	pH değeri				
	0. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
OÜPY	5,01 (0,14) ^{aA}	4,66 (0,24) ^{bA}	4,77 (0,83) ^{abA}	4,74 (0,06) ^{bA}	4,72 (0,02) ^{bA}
Üzüm suyu+CaCO ₃	4,83 (0,69) ^{aA}	4,75 (0,59) ^{aA}	4,80 (0,67) ^{aA}	4,84 (0,69) ^{aA}	4,83 (0,68) ^{aA}
Yulaf Sütü+CaCO ₃	6,87 (0,00) ^{aB}	6,65 (0,03) ^{bB}	6,84 (0,03) ^{acB}	6,77 (0,01) ^{cB}	6,80 (0,06) ^{cB}

^{a-c}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-B}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

L. acidophilus La-5 ilave edilerek hazırlanan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örneklerinin depolama başında pH değeri 5,01 iken, depolama sonunda 4,72'ye düştüğü belirlenmiş olup, bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0,05). Kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu örneklerinin pH değerleri depolama süresince sabit kalmıştır (P>0,05). Yulaf sütü kontrol grubu örneklerinde başlangıç pH değeri 6,87 olup, depolama sonunda pH 6,80'e düşmüştür. Örneklere ilave edilen kalsiyum karbonat pH değerlerinin düşmesini engellemiştir.

L. acidophilus La-5 içeren üzüm suyu örneklerinin fermentasyon öncesi, fermentasyon sonrası ve 28 günlük depolama süresi boyunca titrasyon asitliği değerleri kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu ve yulaf sütü kontrol grubu örnekleri ile Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) için Tablo 4.74'te verilmiştir.

Tablo 4.74. Depolama süresi boyunca *L. acidophilus* La-5 probiyotik ürünlerin titrasyon asitliği analizi sonuçları

Örnek	Titrasyon asitliği (g/L)				
	0. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün
OÜPY	0,65 (0,16) ^{aA}	0,95(0,49) ^{abA}	1,19(0,08) ^{abA}	1,23 (0,04) ^{bA}	1,48 (0,41) ^{bA}
Üzüm suyu+CaCO ₃	2,08 (0,91) ^{aB}	2,21 (0,79) ^{aB}	2,28 (0,75) ^{aB}	2,13 (0,95) ^{aB}	2,38 (0,76) ^{aB}
Yulaf Sütü+CaCO ₃	0,06 (0,00) ^{aA}	0,07 (0,01) ^{aC}	0,08 (0,03) ^{aA}	0,05 (0,01) ^{aC}	0,05 (0,01) ^{aC}

^{a-c}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

^{A-C}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı büyük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Hazırlanan örneklerin titre edilebilir asitlik değerleri Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği için depolama süreci boyunca artış göstermiştir (P<0,05). Kalsiyum karbonat içeren yulaf sütü ve üzüm suyu kontrol grubu örneklerinde ise titre edilebilir asitlik değerleri depolama süresince istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlemlenmemiştir (P>0,05). Dos Santos et al. (2017) tarafından yapılan araştırmada *L. acidophilus* La-5, *L. rhamnosus* HN001 ve *St. thermophilus* TA-40 kullanılarak üzüm suyu üretilmiştir. Üretilen üzüm sularının titre edilebilir asitlik değeri 28 günlük depolama süresince artarak *L. acidophilus* içeren örnekler için 0,0737 g/100 g'den 0,882 g/100 g düzeyine ve *L. rhamnosus* içeren örneklerin ise 0,682 g/100 g'den 0,905 g/100 g değerine ulaştığı rapor edilmiştir.

Salari et al. (2015) tarafından yapılan araştırmada *L. delbrueckii* DSMZ 20006 ve *L. paracasei* DSMZ 15996 kullanılarak probiyotik arpa-malt içeceği hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler 48 saat boyunca 37°C'de fermente edilen örneklerin fermentasyon sonunda pH değerleri ve titre edilebilir asitlik değerleri incelenmiştir. Elde edilen verilerde pH değerinin 5,8-6,5 değerinden 3,5-4,0 değerlerine düştüğü saptanmıştır. Yapılan araştırmada titre edilebilir asitlik

değerlerinin ise özellikle *L. paracasei* için hızlı bir şekilde arttığı görülmüştür. Titre edilebilir asitlik değerlerinin her iki bakteri türü için de 0,5-0,7 g/100 g laktik asit aralığında olduğu belirtilmiştir.

Rozada-Sánchez et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada insan kaynaklı probiyotikler (*B. adolescentis* NCIMB 702204, *B. infantis* NCIMB 702205, *B. breve* NCIMB 702257 ve *B. longum* NCIMB 702259) kullanılarak malt bazlı probiyotik bir içecek üretilmiştir. Hazırlanan örnekler 37°C'de 24 saat boyunca fermente edilmiştir. Fermantasyon süresi boyunca probiyotik sayısı 6,75-7,25 log KOB/ml aralığından 8,50-9,0 log KOB/ml aralığına yükseldiği görülmüştür. Fermantasyon başında 6,1-7,1 aralığında olan pH değerinin ise 3,6-4,6 aralığına düştüğü gözlenmiştir. Fermantasyon süresince üretilen laktik asit miktarının 0-0,5 g/L laktik asit seviyesinden artarak 2,5-3,0 g/L laktik asit aralığına geldiği belirtilmiştir. Fakat *B. adolescentis* için laktik asit miktarının fermantasyon sonunda 4,5 g/L laktik asit olduğu gözlemlenmiştir. Asetik asit miktarının 0-0,5 g/L asetik asit seviyesinden artarak 1,5-2,0 g/L asetik asit aralığına geldiği bulunmuştur. Fakat *B. infantis* için asetik asit miktarının fermantasyon sonunda 3,0-3,5 g/L asetik asit, *B. longum* için ise 2,5-3,0 g/L asetik asit olduğu saptanmıştır. Formik asit miktarının ise tüm bakteriler için fermantasyon başında ve sonunda 0,35-0,5 g/L formik asit aralığında olduğu görülmüştür.

Elde edilen veriler ile literatür araştırmaları karşılaştırıldığında titre edilebilir asitlik değerlerinin yapılan diğer araştırma sonuçlarından daha düşük olduğu saptanmıştır. Fakat yapılan diğer çalışmalarda pH değerleri 3,5-4,5 aralığına düşerken, deney kapsamında hazırlanan örneklerin pH seviyelerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Fermantasyon süresince probiyotik bakterilerin ürettiği asitler fazla üretilmemiş ve bu nedenle pH değerinde düşüş saptanmamıştır. Kalsiyum karbonatın pH tamponlayıcı etkisi nedeniyle titre edilebilir asitlik değerlerinin literatür çalışmalarına göre düşük olması beklenen bir sonuçtur.

4.9.4 Depolama süresince resveratrol miktarlarının belirlenmesi

Örneklerin ve farklı yöntemlerle üretilmiş üzüm sularının resveratrol analizleri Ege Üniversitesi Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinde bulunan Kromatografi Laboratuvarı'nda hizmet alımı şeklinde yaptırılmış ve HPLC kullanılarak resveratrol içeriği belirlenmiştir. Farklı yöntemlerle üretilmiş üzüm sularının resveratrol içeriği Tablo 4.75'te gösterilmiştir.

Tablo 4.75. Farklı yöntemlerle hazırlanmış üzüm suyu örneklerinin resveratrol içeriği

Örnek	Resveratrol İçeriği (µg/g)
Taze üzüm suyu	3,3100 (0,028) ^a
Taze pastörize üzüm suyu	3,8450 (0,007) ^b
Kaynatılmış üzüm suyu	7,5100 (0,000) ^c
Kaynatılmış pastörize üzüm suyu*	9,9000 (0,070) ^d

*Kaynatılmış pastörize üzüm suyu, optimum koşullarda hazırlanan örneklerin oluşturulmasında kullanılan üzüm suyudur.

^{a-d}: Aynı sütun içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Her iki probiyotik bakteri için oluşturulan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinin fermentasyon süresince değişimi ve depolama süresince değişiminin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu sebeple fermentasyon başında, sonunda ve depolamanın 14. gününde resveratrol analizi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.76'da verilmiştir.

Tablo 4.76. Farklı probiyotik kültürler ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin ve üzüm sularının resveratrol miktarları

Örnek	Resveratrol Miktarı (µg/g)		
	Fermantasyon Öncesi	Fermantasyon Sonrası	14. Gün
<i>L. rhamnosus</i> LGG	OÜYP	3,145	3,125
	Üzüm Suyu	9,900	4,285
<i>L. acidophilus</i> La-5	OÜYP	3,040	3,795
	Üzüm Suyu	9,900	3,865
	Üzüm	9,900	6,705
	Suyu+CaCO ₃		

Elde edilen sonuçlarda farklı yöntemlerle üretilen üzüm sularından kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyu örneklerinde resveratrol miktarının 9,90 µg/g olduğu belirlenmiştir. Kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyu örneklerini kaynatılmış üzüm suyu, taze pastörize edilmiş üzüm suyu ve işlem uygulanmamış taze üzüm suyu örnekleri takip etmektedir. Elde edilen sonuçlarda üzüm suyu örneklerine ısıtma işlemi uygulandığında üzüm suyu içerisindeki resveratrol miktarının anlamlı şekilde yükseldiği görülmüştür ($P<0,05$).

Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceklerinin resveratrol içerikleri *L. rhamnosus* LGG veya *L. acidophilus* La-5 içeren örneklerde fermantasyon süresince ve depolama sonunda yaklaşık aynı düzeylerde bulunmuştur. *L. rhamnosus* LGG içeren üzüm suyu örneklerinin fermantasyon sonunda resveratrol miktarının 4,285 µg/g olduğu *L. acidophilus* La-5 içeren üzüm suyu örneklerinde ise resveratrol miktarının 3,865 µg/g olduğu saptanmıştır. Kalsiyum karbonat eklenmiş üzüm suyu örneklerinde ise 6,705 µg/g resveratrol içerdiği belirlenmiştir.

Cazarin et al. (2013) tarafından yapılan çalışmada farklı zamanlarda toplanan Isabella üzüm sularının resveratrol içeriği araştırılmıştır. Trans-resveratrol içeriğinin mart ayında toplanan üzümler ile yapılan meyve sularında 0,57 mg/L olduğu, eylül ayında toplanan üzümler ile yapılan meyve suyunda ise 0,73 mg/L olduğu saptanmıştır. Perrone et al. (2007) tarafından yapılan analizde 112 tane şarap üzerinden analiz yapılmıştır. Yapılan analizlerde resveratrol içeriğinin ortalamasının ise 3,14 mg/L olduğu gözlemlenmiştir. Santos et al. (2011) tarafından yapılan araştırmada Isabella, Niagara, Benitaka ve Brazil üzüm türleri kullanılmış ve üzümlerin kabuk, posa ve çekirdeklerindeki trans-resveratrol miktarları karşılaştırılmıştır. Yapılan araştırmada Isabella üzümünün kabuğunda 12.96 ± 1.06 µg/g trans-resveratrol içerdiği bulunmuştur. Isabella üzümünden sonra ise Brazil türü üzümü kabuğunun 2.84 ± 0.08 µg/g trans-resveratrol içerdiği saptanmıştır. Yapılan araştırmada Isabella üzümünün kabuklarının diğer üzüm kabuklarına kıyasla resveratrol bakımından daha zengin olduğu belirtilmiştir. Elde edilen veriler, literatür değerleriyle karşılaştırıldığında üzüm suyunun resveratrol içeriğinin literatür değerlerine uyum sağladığı görülmüştür.

4.9.5 Depolama süresince duyuşal özelliklerinin belirlenmesi

L. rhamnosus LGG içeren yulaf sütü (%6,74 (w/v)), üzüm suyu ve Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinde yapılan duyuşal testlerin sonuçlarında depolama süresi başında ve depolama süresince 7 günde bir analiz yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.77’de gösterilmiştir.

Tablo 4.77. *L. rhamnosus* LGG ile hazırlanan örneklerin 28 günlük depolama süresince duyusal değerlendirme sonuçları

Örnek	Duyusal Özellik	Duyusal değerlendirme sonuçları				
		Depolama Süresi (gün)				
		0.	7.	14.	21.	28
OÜPY	Tat	7,38 (0,31) ^a	6,53 (0,45) ^{bc}	6,18 (0,26) ^b	8,50 (0,54) ^d	6,83 (0,37) ^c
	Yabancı Tat	7,50 (0,35) ^a	6,40 (0,76) ^{bc}	6,01 (0,15) ^b	8,33 (0,51) ^d	6,76 (0,14) ^c
	Asitlik	7,29 (0,19) ^a	6,00 (0,47) ^b	6,11 (0,22) ^b	8,67 (0,51) ^c	6,93 (0,36) ^a
	Aroma	7,25 (0,41) ^a	6,23 (0,27) ^b	6,10 (0,24) ^b	8,50 (0,54) ^c	6,55 (0,35) ^b
	Kıvam	7,33 (0,51) ^a	6,00 (0,21) ^c	6,66 (0,51) ^b	8,33 (0,52) ^d	6,95 (0,22) ^{ab}
	Genel Kabul	7,58 (0,26) ^a	6,67 (0,35) ^{bc}	6,34 (0,16) ^b	8,50 (0,54) ^d	6,86 (0,24) ^c
	Tat	8,53 (0,26) ^a	8,19 (0,11) ^{bc}	7,80 (0,09) ^d	8,33 (0,41) ^{ab}	8,00 (0,29) ^{cd}
Üzüm Suyu	Yabancı Tat	8,51 (0,28) ^a	6,73 (0,23) ^b	7,43 (0,43) ^c	8,17 (0,51) ^a	8,25 (0,41) ^a
	Asitlik	8,43 (0,22) ^a	7,57 (0,41) ^b	7,51 (0,12) ^b	8,50 (0,44) ^a	7,78 (0,43) ^b
	Aroma	8,61 (0,14) ^a	8,05 (0,36) ^{bc}	7,75 (0,08) ^c	8,33 (0,41) ^{ab}	8,12 (0,23) ^b
	Kıvam	8,47 (0,37) ^a	7,11 (0,39) ^c	7,18 (0,20) ^c	8,33 (0,52) ^a	7,76 (0,19) ^b
	Genel Kabul	8,57 (0,09) ^a	8,05 (0,28) ^b	7,71 (0,06) ^c	8,50 (0,44) ^a	8,07 (0,28) ^b
	Tat	2,83 (0,55) ^{ab}	2,83 (0,24) ^{ab}	2,29 (0,09) ^c	2,50 (0,00) ^{ac}	3,16 (0,09) ^b
	Yabancı Tat	5,97 (0,49) ^a	4,86 (0,19) ^{bc}	3,31 (0,22) ^d	5,00 (0,00) ^b	5,59 (0,26) ^c
Yulaf	Asitlik	5,27 (0,43) ^a	3,25 (0,26) ^b	2,81 (0,13) ^c	4,91 (0,21) ^d	4,60 (0,09) ^e
Sütü	Aroma	2,49 (0,29) ^a	2,53 (0,32) ^a	2,11 (0,14) ^b	2,08 (0,20) ^b	2,87 (0,19) ^c
	Kıvam	3,64 (0,91) ^{ab}	3,88 (0,46) ^b	3,16 (0,48) ^a	3,50 (0,31) ^{ab}	4,58 (0,41) ^c
	Genel Kabul	2,99 (0,38) ^a	3,31 (0,38) ^a	2,33 (0,18) ^b	2,58 (0,21) ^b	3,23 (0,16) ^a

^{a-c}: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir (P<0,05).

Standart sapma değerleri parantez içerisinde belirtilmiştir.

Elde edilen verilere göre bütün örnekler arasında üzüm suyu örnekleri en çok beğenilen ürün olmuştur. Bu sırayı Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş

probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ve en az beğenilen ürün ise yulaf sütü ürünleri olmuştur. Üzüm suyunun kendine has tadı ve kokusu ürünlerin beğenilmesinde katkı sağlamış ve panelistlerin ürünler hakkındaki yorumları içerisinde yulaf sütü örnekleri için “yavan” veya “tatsız” ifadeleri kullanılmıştır. Yapılan deneyde örneklerin depolama süresince duyuşal özelliklerinde anlamlı değışiklikler olmuştur ($P<0,05$).

Optimizasyon işleminde elde edilen verilere bağı olarak hazırlanan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş *L. acidophilus* La-5 içeren probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örneklerinin fermentasyon süresi sonunda ve 28 günlük depolama süresince duyuşal özellikleri incelenmiş ve analizler sonucunda Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) örnekleri için elde edilen veriler Tablo 4.78’de gösterilmiştir.

Tablo 4.78. *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan örneklerin 28 günlük depolama süresince duyuşal değeriendirme sonuçları

Duyuşal Özellik	Duyuşal değeriendirme sonuçları				
	Depolama Süresi (gün)				
	0	7	14	21	28
Tat	7,50 (1,32) ^a	7,25 (1,48) ^a	7,33 (1,53) ^a	7,11 (1,53) ^a	6,50 (1,54) ^a
Yabancı Tat	7,44 (2,22) ^a	7,44 (2,22) ^a	7,50 (2,04) ^a	7,44 (1,95) ^a	7,28 (2,03) ^a
Aroma	6,56 (2,13) ^a	6,56 (2,25) ^a	6,56 (2,23) ^a	6,44 (2,04) ^a	5,94 (1,98) ^a
Kıvam	7,19 (1,16) ^a	7,44 (0,82) ^a	7,39 (0,92) ^a	7,33 (0,84) ^a	7,33 (1,03) ^a
Asitlik	6,06 (1,65) ^a	6,06 (1,61) ^a	6,44 (1,68) ^a	6,44 (1,54) ^a	6,50 (1,65) ^a
Genel Kabul	6,56 (1,79) ^a	6,62 (1,67) ^a	6,89 (1,78) ^a	6,78 (1,77) ^a	6,61 (1,79) ^a

^a: Aynı satır içerisinde bulunan farklı küçük harfler anlamlı farkı göstermektedir ($P<0,05$).

Standart sapma değeri parantez içerisinde belirtilmiştir.

L. acidophilus La-5 ile hazırlanan ve 28 günlük depolama süresine tabi tutulan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin depolama süresi boyunca örneklerin duyuşal değerielerinde anlamlı bir değışim gözlemlenmemiştir ($P<0,05$). Fermentasyon işleminde süresince laktik asit bakterilerinin ürettikleri laktik asit sebebiyle gıda içerisinde karakteristik asidik

bir tat oluşmaktadır ve bunun yanında lipolitik ve proteolitik aktivite sonucunda tekstürde bir kıvam değişimi oluşmaktadır (Cruz et al., 2010; Leroy and De Vuyst, 2004). Fermantasyon süreci boyunca aynı zamanda şekerin kullanılması ile, meyve suyunun tatlılık derecesinde azalma olmakta ve probiyotik bakteriler eklendiğinde ilaşı bir tat ve koku oluşmaktadır. *L. acidophilus* La-5 ile yapılan duyuusal deneylerinde oluşan asidik tadın, üzümün verdiği tadı etkilediği belirtilmiştir. Ayrıca içerisine eklenen kalsiyum karbonat içeriğinin de örneklerde kumsu yapıya neden olduğu belirtilmiştir.

Arslan et al. (2015) tarafından yapılan araştırmada probiyotik içerikli bozanın duyuusal analizleri yapılmış ve örneklerde şekerlerin depolama süresi boyunca probiyotikler tarafından parçalanması ve farklı metabolitlerin ortaya çıkması ile depolama süresince verilen değerlerin azaldığı belirtilmiş ve örneklerin 5 puanın altında olmasından dolayı örneklerin raf ömrünü 12 gün olarak belirlemişlerdir. Özcan et al. (2015) tarafından yapılan bir araştırmada *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* örnekleri elma ve yabanmersini içeren süt ürünlerine eklenerek bir ürün hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler 28 gün boyunca 4°C’de depolamıştır ve duyuusal analiz yapılmıştır. Yapılan analiz sonuçlarında *L. acidophilus* ve elma suyu içeren süt örneklerinin daha fazla beğenildiği görülmüş, elde edilen sonuçları yabanmersini içeren süt ürünün takip ettiği belirtilmiştir. *L. rhamnosus* suşu eklenen örneklerde de elma suyu eklenen örneklerin yabanmersini eklenen örneklere göre daha iyi duyuusal sonuçlar aldığı saptanmıştır. Profir et al. (2015) tarafından yapılan araştırmada ise farklı sebzeler (pancar, havuç ve kereviz) ve bileşenler (bal) kullanılarak probiyotik bir ürün geliştirilmiştir. Yapılan duyuusal analizlerde bal miktarının yüksek olduğu ve dondurularak kurutulan meyve posasının ise düşük olduğu değerlerde duyuusal değerlerin yüksek çıktığı saptanmıştır. Yapılan analizin depolamasının sonunda 7,04-7,46 log KOB/ml probiyotik bakteri içerdiği de belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlarda ve literatür çalışmalarında yulafın yavan tadına üzüm suyu gibi tadı daha dikkat çekici ve istek uyandırıcı bileşenler eklendiğinde, örneklerin duyuusal özelliklerinin de arttığı saptanmıştır. Ayrıca laktik asit bakterileri ile yapılan fermantasyonun tahıl bazlı ürünlerin düşük duyuusal değerlerini arttırdığı belirtilmiştir (Peyer et al., 2016). *L. rhamnosus* ile hazırlanan örneklerde üzüm

suyu yüksek duyuusal beğeniye sahiptir ve düşük beğeniye sahip olan yulaf sütüne eklendiği zaman oluşturulan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örneklerinin de duyuusal değerlerinin yükseldiği görülmüştür.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde bitkisel içerikli probiyotik ürünlere olan ilgi artmaktadır. Vegan görüşe sahip bireylerle birlikte laktoz intoleransına sahip bireyler için, süt ve süt ürünü içermeyen; aynı zamanda da çölyak hastaları gibi gluten intoleransı olan bireyler için de uygun olması açısından gluten içermeyen yulaf ile yeni ürünler üretilmiştir. Bu çalışma kapsamında, süt içeren probiyotik ürünlere alternatif olarak üretilen yulaf sütüne Isabella üzüm suyu ve probiyotik özellikteki *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 kültürlerinin ilave edilmesi ile gluten içermeyen bitkisel probiyotik ürün geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Tez kapsamında, Isabella üzüm (*Vitis labrusca* L.) suyu ile zenginleştirilmiş *L. rhamnosus* LGG veya *L. acidophilus* La-5 içeren probiyotik yulaf sütü içeceği üretiminin optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve optimize edilmiş koşullarda üretilen ürünlerin depolanması süresince probiyotik bakterilerin canlı kalma durumu incelenmiştir. İlk olarak dört farklı yöntemle elde edilmiş üzüm sularının antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilerek projede kullanılacak uygun üretim yöntemi belirlenmiştir. *L. rhamnosus* LGG içeren probiyotik ürünlerin üretiminde üzüm suyu, yulaf sütü ve inülinin farklı konsantrasyonları ile fermantasyon süresinin belirlenmesi için optimizasyon çalışması yapılmıştır. Yapılan ön denemelerde, inülinin *L. acidophilus* La-5 gelişimini desteklemediği ve fermantasyon süresinin sonunda sayıların istenen seviyelerde olmadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle *L. acidophilus* La-5 için optimizasyon çalışmasında inülin kullanılmamıştır. pH dengesini sağlamak için ortama kalsiyum karbonat ilave edildiğinde ise sayıların istenen seviyede canlı kaldığı belirlenmiş, probiyotik ürünlerde kullanılacak üzüm suyu, yulaf sütü ve kalsiyum karbonat miktarlarının belirlenmesi için optimizasyon çalışması yapılmıştır. Optimize edilmiş koşullarda Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş *L. rhamnosus* LGG veya *L. acidophilus* La-5 içeren probiyotik yulaf sütü içeceği üretimi yapılmıştır. Fermantasyon öncesi ve fermantasyon tamamlandıktan sonra ürünlerde pH, titrasyon asitliği, toplam çözünür madde, renk, β -glukan içeriği, toplam kuru madde, kül, protein, toplam yağ, diyet lifi içeriği, toplam karbonhidrat, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve resveratrol miktarları belirlenmiştir. Optimize edilmiş ürünün ve

kontrol ürünlerinin fermentasyon başlangıcı ve fermentasyon süresince iki saatte bir pH değerleri ölçülmüş ve probiyotik bakteri sayıları belirlenerek probiyotiklerin üreme eğrileri oluşturulmuştur. Fermentasyonu tamamlanan optimize edilmiş koşullarda üretilen ürünler daha sonra 4°C’de 28 gün depolanmış ve depolama işlemi süresince probiyotik sayıları, pH, titre edilebilir asitlik, resveratrol analizleri ve duyuusal testler yapılmıştır. Yapılan bu araştırmalar sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda sırasıyla özetlenmiştir.

Yulaf sütünün duyuusal ve besleyici özelliklerini desteklemesi için ürünlerin içerisine Isabella üzüm suyu eklenmiştir. Ürünlerin oluşturulması için seçilen Isabella üzümü Dünya’da Güney Amerika ve Brezilya gibi ülkelerde yetişirken, Türkiye’de Karadeniz Bölgesi’nde bölge halkı tarafından çardak sitemiyle yaygın olarak yetiştirilmektedir. Samsun’dan toplanan Isabella üzümleri laboratuvar ortamında dört farklı yöntemle üzüm suyu haline getirilmiş ve çalışmada kullanılacak üzüm suyu üretim yönteminin belirlenmesi için üzüm sularının antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri, resveratrol ve fenolik madde içerikleri belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite testi sonuçları değerlendirildiğinde, kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyu örneklerinin düşük MİK değerleri ile patojen bakterilere karşı etkili olduğu, probiyotik bakteriler üzerinde ise %50 gibi yüksek MİK değerlerinde etki gösterdiği görülmüştür. Yapılan fenolik madde ve antioksidan aktivite analizlerinde kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyu örneklerinin diğer üzüm sularına kıyasla anlamlı olarak daha yüksek resveratrol ve fenolik madde içerdiği ve yüksek antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır ($P<0,05$). Elde edilen sonuçlar neticesinde *L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5 içeren Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) ürünlerinin üretiminde kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyu kullanılmıştır.

Optimizasyon çalışmaları yapılmadan önce ön denemeler gerçekleştirilmiştir. *L. rhamnosus* LGG ile yapılan ön denemeler kapsamında anne sütünün besleyiciliği içeriğine yakınlığı ile bilinen keçi sütü kullanılmıştır. Yerel marketlerden temin edilen keçi sütü ile laboratuvar ortamında üretilen yulaf sütünün *L. rhamnosus* LGG sayılarına etkisi araştırılmıştır. *L. rhamnosus* LGG ile

yapılan ön deneme kapsamında keçi sütü ve yulaf sütlerine kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyu eklenmiş ve örnekler liyofilize kültürler eklenmiştir. Farklı fermentasyon sürelerinde pH değerleri ve *L. rhamnosus* LGG sayıları kontrol edilmiştir. Elde edilen sonuçlar kapsamında içerisinde inülin bulunmayan yulaf sütü ve üzüm suyu örneklerinin, içerisinde inülin bulunan örnekler göre *L. rhamnosus* LGG sayılarının daha az olduğu saptanmıştır. İnülin ve üzüm suyu bulunan yulaf sütü ve keçi sütü ile hazırlanan örneklerin *L. rhamnosus* LGG sayılarının 6,93-7,23 log KOB/ml düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Hazırlanan örneklerin depolamanın 60. gününe kadar probiyotik özelliğini koruduğu saptanmıştır. Üzüm suyu ve inülin içermeyen yulaf sütü örneklerinin 7. günden sonra, üzüm suyu kontrol örneklerinde ise depolamanın ilk 7 gününde probiyotik özelliğini kaybettiği görülmüştür. Bu sebeple üzüm suyu, yulaf sütü ile kombine edildiğinde probiyotikleri daha iyi desteklediği gözlemlenmiştir.

L. acidophilus La-5 içeren örneklerin optimizasyonundan önce, *L. acidophilus* La-5 kültürünün canlı kalma durumlarının belirlenmesi için çeşitli ön denemeler yapılmıştır. *L. rhamnosus* LGG için uygulanan koşullarda *L. acidophilus* La-5 kültürünün istenilen seviyede canlı kalamadığı belirlenmiştir. Yulaf sütüne ilave edilen üzüm suyunun ortamın pH değerini düşürmesi nedeniyle, yapılan ön denemelerde *L. acidophilus* La-5'in düşük pH değerlerinde istenen yüksek sayılarda canlılığını sürdüremediği tespit edilmiştir. Yapılan ön denemeler ve literatür araştırması kapsamında inülinin *L. acidophilus* La-5 kültürünün gelişimi ve canlılığını sürdürmesi üzerinde etkisinin olmadığı görülmüştür. Yapılan literatür araştırmalarında *L. acidophilus* La-5 için optimum pH değerinin 5,5-6,0, minimum değerinin ise 4,2 olması gerektiği belirtilmiştir. Yapılan ön denemelerle kalsiyum karbonat eklenmesinin örneklerin pH değerlerini yükselttiği ve örnekler eklendiğinde *L. acidophilus* La-5 canlılığını korumasına yardımcı olduğu görülmüştür. Fermentasyonun 8. saatinde ürünlerin pH değerinin 4,2 değerine yakın olduğu görülmüştür. Bu sebeple, *L. acidophilus* La-5 suşu ile hazırlanan örneklerde 8 saat fermentasyon işlemi uygulanmıştır.

Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY) oluşturulurken kaynatılmış ve pastörize edilmiş üzüm suyu kullanılmış

olup, ürünün uygun konsantrasyonlarının belirlenebilmesi için Design Expert 7.0.0 programı Box-Behnken metoduna göre Yanıt Yüzey Metodolojisi kullanılmıştır.

Optimizasyon kapsamında *L. rhamnosus* LGG içeren örnekler için optimizasyon deneme koşulları için %2, %6 ve %10 (w/w) yulaf sütü konsantrasyonu, %5, %15 ve %25 (w/w) oranlarında üzüm suyu ve %0, %0,85 ve %1,7 (w/w) oranlarında inülin kullanılmıştır. Yapılan optimizasyon kapsamında *L. rhamnosus* LGG içeren örneklerin fermantasyon süresi, *L. rhamnosus* LGG sayısı (log KOB/ml), pH, duyuşal özellikleri ve su tutma kapasitesi değerleri cevap olarak seçilmiştir. Elde edilen cevaplar neticesinde *L. rhamnosus* LGG ile hazırlanan örneklerin optimum sonuçlarının %6,74 (w/v)'lük konsantrasyona sahip yulaf sütü ve %25 (w/v) oranında üzüm suyu ve %1,53 (w/v) oranında inülin olduğu, optimum fermantasyon süresinin ise 24 saat olması gerektiği program tarafından belirtilmiştir.

L. acidophilus La-5 suşu ile hazırlanan örneklerin optimizasyon deneme deseninde %2, %6 ve %10 (w/w) yulaf sütü konsantrasyonu, %5, %15 ve %25 (w/w) oranlarında üzüm suyu ve 0, 120 ve 240 mg Ca⁺²/100 ml yulaf sütü oranları ile deneme desenleri program tarafından verilmiştir. Oluşturulan deneme deseninde *L. acidophilus* La-5 sayısı (log KOB/ml), pH, duyuşal özellikleri ve su tutma kapasitesi değerleri cevap olarak belirlenmiştir. *L. acidophilus* La-5 suşu içeren örneklerin optimum değerlerinin %5,24 (w/v)'lük konsantrasyona sahip yulaf sütü, %24,99 (w/v) oranında üzüm suyu ve 197,35 mg/100 ml yulaf sütü oranında CaCO₃ olması program tarafından belirlenmiştir.

Her iki probiyotik kültür için optimum koşullar kullanılarak hazırlanan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği (OÜPY), *L. rhamnosus* LGG için inülin içeren yulaf sütü ve üzüm suyu kontrol örnekleri; *L. acidophilus* La-5 için ise kalsiyum karbonat içeren yulaf sütü ve üzüm suyu kontrol örnekleri hazırlanmış ve fermantasyon sürecine tabi tutulmuştur. Fermantasyon başında ve sonunda örneklerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirlemek için titrasyon asitliği, toplam çözünür madde (°Brix) içeriği, renk

analizi, β -glukan içeriği, toplam kuru madde içeriği, kül, protein, yağ, diyet lif, toplam karbonhidrat, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve resveratrol analizleri yapılmıştır. Fermantasyon sonunda *L. rhamnosus* LGG ile hazırlanan örneklerin yağ oranının %0,11, protein oranının %1,06, diyet lif içermeyen karbonhidrat oranının %6,47, diyet lif oranının %1,43, kül içeriğinin %0,13 ve kuru madde oranının %8,78 ve β -glukan içeriğinin ise %0,0092 olduğu belirlenmiştir. *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan örneklerin yağ oranının %0,09, protein oranının %0,88, diyet lif içermeyen karbonhidrat oranının %4,19, diyet lif oranının %1,70, kül içeriğinin %0,48 ve kuru madde oranının %7,47 ve β -glukan içeriğinin ise %0,0071 olduğu saptanmıştır. *L. acidophilus* La-5 ile oluşturulan örneklerde kül miktarının yüksek olmasının *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan örneklerle kalsiyum karbonat eklenmesi sonucu meydana geldiği düşünülmektedir. Yulaf sütü içerisine üzüm suyu eklenmesinin üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin besin değerlerini arttırdığı belirlenmiştir.

Fermantasyon süresi tamamlanan kontrol örnekleri ile Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örnekleri 4°C’de 28 günlük depolama sürecine tabi tutulmuştur. Fermantasyon süresi sonunda *L. rhamnosus* LGG ile hazırlanan örneklerin probiyotik sayıları 7,25- 8,60 aralığında olduğu görülmüştür. Üzüm suyu örneklerinde depolamanın ilk 7 gününde probiyotik sayısı anlamlı derecede azalarak 5,37 log KOB/ml değerine düşmüştür ve üzüm suyu örneklerinin probiyotik sayısı 6 log KOB/ml’nin altında kaldığı için örnekler probiyotik özelliğini kaybetmiştir ($P<0,05$). Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örneklerinde ise probiyotik sayısı değerlerinde depolama süresi boyunca azalma gözlemlenmiş olup ($P<0,05$), depolamanın 21. gününde probiyotik sayısının 6,53 log KOB/ml olduğu gözlemlenmiştir. Depolamanın 28. gününde ise sayının 4,53 log KOB/ml değerine düştüğü belirlenmiş olup, ürün probiyotik özelliğini kaybetmiştir. Yulaf sütü kontrol örneklerinde ise probiyotik sayısında azalma olmasına rağmen 28 günün sonunda 6,48 log KOB/ml olduğu saptanmış ve probiyotik özelliğini koruduğu belirlenmiştir ($P<0,05$). Hazırlanan örneklerin pH değerlerinde Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örnekleri ve yulaf sütü

kontrol örnekleri için artış gözlemlenmiştir ($P<0,05$). Üzüm suyu örneklerinde de artış gözlemlenmiş fakat bu artış anlamlı olarak değerlendirilmemiştir ($P>0,05$). Titrasyon asitliği değerleri kontrol edildiğinde yulaf sütünün ve Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örneklerinin titrasyon asitliği depolama süresi boyunca değişiklik göstermiştir ($P<0,05$). Üzüm suyu örneklerinde titrasyon asitliği değerinde değişim görülse de bu değişim anlamlı olarak değerlendirilmemiştir ($P>0,05$). Fermantasyon öncesi ve sonrası fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite testlerinde üzüm suyu kontrol örnekleri için fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesinde anlamlı derecede değişiklik göstermemiş ve fermantasyon sonunda sırasıyla 2147,40 mg GAE/L ve %218,39 olduğu saptanmıştır ($P>0,05$). Üzüm suyu örneklerinin resveratrol miktarı başlangıçta 9,90 $\mu\text{g/g}$ iken fermantasyon sonunda 4,29 $\mu\text{g/g}$ olarak belirlenmiştir. Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örnekleri için fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite testlerinde de anlamlı derecede değişiklik görülmemiş ve sırasıyla değerleri 322,39 mg GAE/L ve %31,10 olarak saptanmıştır ($P>0,05$). Resveratrol içeriğinde fermantasyon öncesi, sonrası ve depolamanın 14. gününde yapılan ölçümlerde ise değişiklik gözlemlenmemiştir (3,12-3,15 $\mu\text{g/g}$). Örneklerin duyuusal değerlendirmeleri kontrol edildiğinde ise üzüm suyu örneklerinin en beğenilen ürün olduğu saptanmıştır. Fakat Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örneklerinin duyuusal değerlendirmeleri sonuçlarında yüksek değerler kullanıldığı görülmüştür. Hazırlanan kontrol örnekleri ve Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örneklerinin depolama süresi boyunca duyuusal değerlendirmelerinde düşüş gözlemlenmiştir ($P<0,05$).

Fermantasyon süresi sonunda *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan örneklerde probiyotik sayılarının 7,44-7,81 log KOB/ml olduğu belirlenmiştir. Kalsiyum karbonat eklenerek hazırlanan yulaf sütü ve üzüm suyu kontrol örneklerinin depolamanın ilk 7 gününde probiyotik sayısı 6 log KOB/ml'nin altına düşmüş (kalsiyum karbonatlı üzüm suyu 5,29 log KOB/ml ve kalsiyum karbonatlı yulaf sütü 3,65 log KOB/ml) ve ürünler probiyotik özelliğini kaybetmiştir. *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örneklerinin ise depolamanın 14. gününe kadar 6,34 log

KOB/ml düzeyinde probiyotik özelliğini koruduğu görülmüştür. Fakat depolamanın 21. gününde probiyotik sayısı 5,01 log KOB/ml'ye düştüğü saptanmıştır ($P<0,05$). Depolama süresi boyunca kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir ($P>0,05$). Kalsiyum karbonat içeren yulaf sütü kontrol örneklerinin pH değerlerinin ilk 7 gününde azalma görülmüş fakat 14. günde pH değerlerinde artış olmuştur. Depolamanın diğer günlerinde ise pH değerleri 6,77 (21. gün) ve 6,80 (28. gün) olarak belirlenmiştir ($P<0,05$). Kalsiyum karbonat içeren yulaf sütü kontrol örneklerinin titrasyon asitliği değerinde anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (0,05-0,08) ($P>0,05$). Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örnekleri için pH değerleri depolama süresi boyunca ilk 14 günde azalma gösterirken, 14. günden sonra sabit kalmıştır (4,72-4,77) ($P<0,05$). Titrasyon asitliği değerleri kontrol edildiğinde ise örneklerin asitliğinin depolama süreci boyunca sürekli artış gösterdiği saptanmıştır ($P<0,05$). Fermantasyon öncesi ve sonrası fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite testlerinde kalsiyum karbonat içeren üzüm suyu kontrol örnekleri için fenolik madde miktarı anlamlı derecede artış göstermiş ve 3214,38 mg GAE/L olduğu saptanmıştır. Antioksidan aktivite testlerinde ise anlamlı bir değişiklik saptamamış ve fermantasyon sonrasında antioksidan aktivitesi %244,69 olarak belirlenmiştir ($P>0,05$). Üzüm suyu örneklerinin resveratrol miktarı başlangıçta 9,90 µg/g iken fermantasyon sonunda 3,87 µg/g olarak belirlenmiştir. Fakat örneklerle kalsiyum karbonat eklendiğinde resveratrol içeriğinin 6,71 µg/g olduğu görülmüştür. Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örnekleri için fenolik madde içeriği testlerinde anlamlı derecede değişiklik görülmemiş ve sırasıyla değerleri 361,25 mg GAE/L olarak saptanmıştır ($P>0,05$). Antioksidan aktivite testlerinde ise örneklerde anlamlı bir artış gözlemlenmiş ve fermantasyon sonunda antioksidan aktivitesinin %52,71 olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Resveratrol içeriğinde fermantasyon öncesi 3,04 µg/g olan değer fermantasyon sonrasında 3,80 µg/g olarak belirlenmiştir. Depolamanın 14. gününde ise resveratrol miktarı 3,05 µg/g'e düşmüştür. *L. acidophilus* La-5 ile hazırlanan Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceği örnekleri için yapılan duyuusal değerlendirmede, örneklerin yüksek puanlar aldığı

belirlenmiştir. Fakat depolama süresince duyusal değerlerinde düşüş gözlemlenmiştir.

Yapılan araştırmalar sonucunda her iki probiyotik kültür ile üretilen Isabella üzüm suyu ile zenginleştirilmiş probiyotik yulaf sütü içeceğinin laktoz intoleransı, dislipidemi ve çölyak hastalığına sahip bireyler ve vegan görüşe sahip tüketiciler için uygun besin değerlerine sahip ve *L. rhamnosus* LGG için en az 21 gün, *L. acidophilus* La-5 için en az 14 gün probiyotik özelliğini koruyan probiyotik ürünler oluşturulmuştur. Meyve sularının içerdiği yüksek şeker miktarı örneklerin içerisinde bulunan şeker miktarını arttırdığından probiyotikler için uygun bir gıda matrisi oluşturmuştur. Duyusal değerleri düşük olan yulaf sütünün içerisine Isabella üzüm suyu eklenmesi ile örneklerin duyusal değerleri yükselmiş ve tercih edilebilir bir ürün haline gelmiştir.

Isabella üzümünün antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi nedeni ile gıda endüstrisinde kullanım potansiyeli olan bir ürün olduğu sonucuna varılmıştır. Bu ürün ile ilgili olarak gıda endüstrisinde kullanım alanlarının artırılması için endüstriyel uygulamalara dönük daha fazla araştırma yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- AdebayoTayo, B., and Akpeji, S.,** 2016, Probiotic Viability, Physicochemical and Sensory Properties of Probiotic Pineapple Juice, *Fermentation*, 2(4), 20.
- Afzaal, M., Saeed, F., Saeed, M., Ahmed, A., Ateeq, H., Nadeem, M. T., and Tufail, T.,** 2020, Survival and Stability of Free and Encapsulated Probiotic Bacteria Under Simulated Gastrointestinal Conditions and in Pasteurized Grape Juice, *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(3), e14346.
- Agte, V., Khetmalis, N., Nilegaonkar, S., Karkamkar, S., and Yadav, S.,** 2010, Prebiotic Potential of ‘Juice Grape’ Varieties and Some Hybrids, *Journal of Scientific & Industrial Research*, 69(11), 850-854.
- Allgeyer, L. C., Miller, M. J., and Lee, S. Y.,** 2010, Sensory and Microbiological Quality of Yogurt Drinks with Prebiotics and Probiotics, *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4471-4479.
- Altay, F., Karbancioglu-Güler, F., Daskaya-Dikmen, C., and Heperkan, D.,** 2013, a Review on Traditional Turkish Fermented Non-Alcoholic Beverages: Microbiota, Fermentation Process and Quality Characteristics, *International Journal of Food Microbiology*, 167(1), 44-56.
- Alves, L. L., Richards, N. S., Mattanna, P., Andrade, D. F., S Rezer, A. P., Milani, L. I., Cruz A. G., and Faria, J. A.,** 2013, Cream Cheese as a Symbiotic Food Carrier Using *Bifidobacterium animalis* Bb-12 and *Lactobacillus acidophilus* La-5 and Inulin, *International Journal of Dairy Technology*, 66(1), 63-69.
- Amelia, R., Philip, K., Pratama, Y. E., and Purwati, E.,** 2020, Characterization and Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Dadijah Sampled in West Sumatra, *Food Science and Technology*.
- Anderson, J. W., and Hanna, T. J.,** 1999, Impact of Nondigestible Carbohydrates on Serum Lipoproteins and Risk for Cardiovascular Disease, *The Journal of Nutrition*, 129(7), 1457-1466.
- Angelov, A., Gotcheva, V., Hristozova, T., and Gargova, S.,** 2005, Application of Pure and Mixed Probiotic Lactic Acid Bacteria and Yeast Cultures for Oat Fermentation, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(12), 2134-2141.
- Angelov, A., Gotcheva, V., Kuncheva, R., and Hristozova, T.,** 2006, Development of a New Oat-Based Probiotic Drink, *International Journal of Food Microbiology*, 112(1), 75-80.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Aparicio-García, N., Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., and Peñas, E.,** 2020, Production and Characterization of a Novel Gluten-Free Fermented Beverage Based on Sprouted Oat Flour, *Foods*, 10(1), 139.
- Arcanjo, N. M. D. O., Neri-Numa, I. A., Bezerra, T. K. A., Silva, F. L. H. D., Pastore, G. M., and Madruga, M. S.,** 2017, Quality Evaluation of Red Wines Produced from the Isabella and Ives Cultivar (*Vitis labrusca*): Physicochemical Parameters, Phenolic Composition and Antioxidant Activity, *Food Science and Technology*, 37(2), 184-192.
- Arena, M. P., Russo, P., Capozzi, V., Rascon, A., Felis, G. E., Spano, G., and Fiocco, D.,** 2016, Combinations of Cereal B-Glucans and Probiotics Can Enhance the Anti-Inflammatory Activity on Host Cells by a Synergistic Effect, *Journal of Functional Foods*, 23, 12-23.
- Arendt, E. K., and Zannini, E.,** 2013, Oats, Cereal Grains for the Food and Beverage Industries, Woodhead Publishing, 243-282.
- Arora, S., Jood, S., and Khetarpaul, N.,** 2010, Effect of Germination and Probiotic Fermentation on Nutrient Composition of Barley Based Food Mixtures, *Food Chemistry*, 119(2), 779-784.
- Arslan, S., Durak, A. N., Erbas, M., Tanriverdi, E., and Gulcan, U.,** 2015, Determination of Microbiological and Chemical Properties of Probiotic Boza and Its Consumer Acceptability, *Journal of the American College of Nutrition*, 34(1), 56-64.
- Arslan-Tontul, S., and Erbas, M.,** 2020, Co-Culture Probiotic Fermentation of Protein-Enriched Cereal Medium (Boza), *Journal of the American College of Nutrition*, 39(1), 72-81.
- Artık, N., Anlı, R. E., Konar, N., and Vural, N.,** 2016, Gıdalarda Bulunan Fenolik Bileşikler, Sidas Medya Ltd Şti., İzmir.
- Asadzadeh, A., Jalali, H., Azizi, M. H., and Nafchi, A. M.,** 2020, Production of Oat Bran Functional Probiotic Beverage Using *Bifidobacterium lactis*, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-9.
- Ashaolu, T. J.,** 2020, Safety and Quality of Bacterially Fermented Functional Foods and Beverages: A Mini Review. *Food Quality and Safety*, 4(3), 123-127.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Aspri, M., Papademas, P., and Tsaltas, D.,** 2020, Review on Non-Dairy Probiotics and Their Use in Non-Dairy Based Products, *Fermentation*, 6(1), 30.
- Aydın, S., and Gökışık, C. D.,** 2019, Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Capacity of Home-Made Isabella Grape (*Vitis labrusca* L.) Vinegar, *International Journal of Chemistry and Technology*, 3(1), 11-16.
- Bansal, S., Mangal, M., Sharma, S. K., Yadav, D. N., and Gupta, R. K.,** 2016, Optimization of Process Conditions for Developing Yoghurt like Probiotic Product from Peanut, *LWT-Food Science and Technology*, 73, 6-12.
- Baş, D., and Boyacı, I. H.,** 2007, Modeling and Optimization I: Usability of Response Surface Methodology. *Journal of food engineering*, 78(3), 836-845.
- Bazaria, B., and Kumar, P.,** 2018, Optimization of Spray Drying Parameters for Beetroot Juice Powder Using Response Surface Methodology (RSM). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(4), 408-415.
- Béal, C., and Fonseca, F.,** 2015, Freezing of Probiotic Bacteria, *Advances in Probiotic Technology*, 229.
- Bedani, R., Rossi, E. A., and Saad, S. M. I.,** 2013, Impact of Inulin and Okara on *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 Viability in a Fermented Soy Product and Probiotic Survival Under *In vitro* Simulated Gastrointestinal Conditions, *Food Microbiology*, 34(2), 382-389.
- Bernat, N., Cháfer, M., González-Martínez, C., Rodríguez-García, J., and Chiralt, A.,** 2015, Optimization of Oat Milk Formulation to Obtain Fermented Derivatives by Using Probiotic *Lactobacillus reuteri* Microorganisms, *Food Science and Technology International*, 21(2), 145-157.
- Berrougui, H., Grenier, G., Loued, S., Drouin, G., and Khalil, A.,** 2009, A New Insight into Resveratrol as an Atheroprotective Compound: Inhibition of Lipid Peroxidation and Enhancement of Cholesterol Efflux, *Atherosclerosis*, 207(2), 420-427.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Bezerra, T. K. A., de Oliveira Arcanjo, N. M., Garcia, E. F., Gomes, A. M. P., do Egypto, R. D. C. R., de Souza, E. L., and Madruga, M. S.,** 2017, Effect of Supplementation with Probiotic Lactic Acid Bacteria, Separately or Combined, on Acid and Sugar Production in Goat ‘Coalho’ Cheese, *LWT-Food Science and Technology*, 75, 710-718.
- Biesiekierski, J. R.,** 2017, What Is Gluten?, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32, 78-81.
- Blandino, A., Al-Aseeri, M. E., Pandiella, S. S., Cantero, D., and Webb, C.,** 2003, Cereal-based Fermented Foods and Beverages, *Food Research International*, 36(6), 527-543.
- Borchers, A. T., Selmi, C., Meyers, F. J., Keen, C. L., and Gershwin, M. E.,** 2009, Probiotics and Immunity, *Journal of Gastroenterology*, 44(1), 26-46.
- Borneo, R., and León, A. E.,** 2012, Whole Grain Cereals: Functional Components and Health Benefits, *Food & Function*, 3(2), 110-119.
- Brecevic, L., and Nielsen, A. E.,** 1989, Solubility of Amorphous Calcium Carbonate, *Journal of Crystal Growth*, 98(3), 504-510.
- Brückner-Gühmann, M., Heiden-Hecht, T., Sözer, N., and Drusch, S.,** 2018, Foaming Characteristics of Oat Protein and Modification by Partial Hydrolysis, *European Food Research and Technology*, 244(12), 2095-2106.
- Burin, V. M., Ferreira-Lima, N. E., Panceri, C. P., and Bordinon-Luiz, M. T.,** 2014, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* Grapes: Evaluation of Different Extraction Methods, *Microchemical Journal*, 114, 155-163.
- Burns, J., Gardner, P. T., Matthews, D., Duthie, G. G., Lean, J., and Crozier, A.,** 2001, Extraction of Phenolics and Changes in Antioxidant Activity of Red Wines During Vinification, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(12), 5797-5808.
- Butt, M. S., Tahir-Nadeem, M., Khan, M. K. I., Shabir, R., and Butt, M. S.,** 2008, Oat: Unique Among the Cereals, *European Journal of Nutrition*, 47(2), 68-79.
- Călinoiu, L. F., Vodnar, D. C., and Precup, G.,** 2016, The Probiotic Bacteria Viability Under Different Conditions, *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 73(2), 55-60.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Campbell-Platt, G.**, 1994, Fermented Foods—A World Perspective, *Food Research International*, 27(3), 253-257.
- Cangi, R., Celik, H., Odabas, F., and Islam, A.**, 2006, Determination of Ampelographic Characters of Some Natural Foxy Grape (*Vitis labrusca* L.) Types Grown in Northern Turkey (in Trabzon Province), *Asian Journal of Plant Sciences*, 52, 373-377.
- Casarotti, S. N., Borgonovi, T. F., Batista, C. L., and Penna, A. L. B.**, 2018, Guava, Orange, and Passion Fruit By-Products: Characterization and Its Impacts on Kinetics of Acidification and Properties of Probiotic Fermented Products, *LWT-Food Science and Technology*, 98, 69-76.
- Cazarin, C. B. B., Correa, L. C., da Silva, J. K., Batista, A. G., Furlan, C. P. B., Biasoto, A. C. T., Pereira, G. E., Rybka, A. C. P. and Junior, M. R. M.**, 2013, Tropical Isabella Grape Juices: Bioactive Compounds and Antioxidant Power Depends on Harvest Season, *International Journal of Food Science*, 3(2), 64.
- Çelik, H.**, 2001, Üzüm Kansere Savaş Açtı, *Ziraat Mühendisliği Dergisi*: 331: 32-35.
- Cemeroğlu, B.S.**, 2013, Gıda Analizleri, Bizim Grup Basımevi, Ankara, Türkiye.
- Cencic, A., and Chingwaru, W.**, 2010, The Role of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements in Intestinal Health, *Nutrients*, 2, 611–625.
- Chaikham, P.**, 2015, Stability of Probiotics Encapsulated with Thai Herbal Extracts in Fruit Juices and Yoghurt During Refrigerated Storage, *Food Bioscience*, 12, 61-66.
- Chan, C. L., Gan, R. Y., Shah, N. P., and Corke, H.**, 2018, Enhancing Antioxidant Capacity of *Lactobacillus acidophilus* – Fermented Milk Fortified with Pomegranate Peel Extracts, *Food Bioscience*, 26, 185-192.
- Charalampopoulos, D., vRastall, R. A.**, 2011, Prebiotics in Foods, *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 1–5.
- Chen, L., Wu, D., Schlundt, J., and Conway, P. L.**, 2020, Development of a Dairy-Free Fermented Oat-Based Beverage with Enhanced Probiotic and Bioactive Properties, *Frontiers in Microbiology*, 11, 3140.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Choi, S. Y., Cho, H. S., Kim, H. J., Ryu, C. H., Lee, J. O., and Sung, N. J.,** 2006, Physicochemical Analysis and Antioxidative Effects of Wild Grape (*Vitis coignetiea*) Juice and Its Wine, *The Korean Journal of Food and Nutrition*, 19(3), 311-317.
- Chou, C. C., and Hou, J. W.,** 2000, Growth of *Bifidobacteria* in Soymilk and Their Survival in the Fermented Soymilk Drink During Storage, *International Journal of Food Microbiology*, 56(2-3), 113-121.
- Coda, R., Lanera, A., Trani, A., Gobetti, M., and Di Cagno, R.,** 2012, Yogurt-Like Beverages Made of a Mixture of Cereals, Soy and Grape Must: Microbiology, Texture, Nutritional and Sensory Properties, *International Journal of Food Microbiology*, 155(3), 120-127.
- Comino, I., de Lourdes Moreno, M., and Sousa, C.,** 2015, Role of Oats in Celiac Disease, *World Journal of Gastroenterology*, 21(41), 11825.
- Coskun, F., and Senoglu, C.,** 2011, Farklı Oranlarda Kalsiyum Karbonat Kullanımının Yoğurdun Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi (İngilizce), *Gıda*, 36(3), 129-135.
- Cotter, P. D., Hill, C., and Ross, R. P.,** 2005, Bacteriocins: Developing Innate Immunity for Food, *Nature Reviews Microbiology*, 3(10), 777-788.
- Craig, W. J.,** 2009, Health Effects of Vegan Diets, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89(5), 1627-1633.
- Cruz, A. G., Cadena, R. S., Walter, E. H., Mortazavian, A. M., Granato, D., Faria, J. A., and Bolini, H. M.,** 2010, Sensory Analysis: Relevance for Prebiotic, Probiotic, and Synbiotic Product Development, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(4), 358-373.
- Da Silva, J. K., Cazarin, C. B. B., Correa, L. C., Batista, Â. G., Furlan, C. P. B., Biasoto, A. C. T., Pereira G.E., Camargo, A.C., and Marostica Junior, M. R.,** 2015, Bioactive Compounds of Juices from Two Brazilian Grape Cultivars, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(6), 1990-1996.
- Damin, M. R., Minowa, E., Alcantara, M. R., and Oliveira, M. N.,** 2008, Effect of Cold Storage on Culture Viability and Some Rheological Properties of Fermented Milk Prepared with Yogurt and Probiotic Bacteria, *Journal of Texture Studies*, 39(1), 40-55.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Daneshi, M., Ehsani, M. R., Razavi, S. H., and Labbafi, M.,** 2013, Effect of Refrigerated Storage on The Probiotic Survival and Sensory Properties of Milk/Carrot Juice Mix Drink, *Electronic Journal of Biotechnology*, 16(5), 5-5.
- Darwin, U. T., Rinaldi, R., and Pratama, A.,** 2019, Anaerobic Acidification of Coconut Water Waste by *Lactobacillus acidophilus* Culture for Biotechnological Production of Lactic Acid, *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 67(6): 0000–0000.
- Das, A., Raychaudhuri, U., and Chakraborty, R.,** 2012, Cereal Based Functional Food of Indian Subcontinent: A Review, *Journal of Food Science and Technology*, 49(6), 665-672.
- Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J., Berenjian, A., and Ghasemi, Y.,** 2019, Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications, *Foods*, 8(3), 92.
- Degirmenci, H., Karapinar, M., and Karabiyikli, S.,** 2012, The Survival of *E. coli* O157: H7, *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* in Black Carrot (*Daucus carota*) Juice, *International Journal of Food Microbiology*, 153(1-2), 212-215.
- Demirkol, M., and Tarakci, Z.,** 2018, Effect of grape (*Vitis labrusca* L.) Pomace Dried by Different Methods on Physicochemical, Microbiological and Bioactive Properties of Yoghurt, *LWT-Food Science and Technology*, 97, 770-777.
- Deswal, A., Deora, N. S., and Mishra, H. N.,** 2014, Optimization of Enzymatic Production Process of Oat Milk Using Response Surface Methodology, *Food and Bioprocess Technology*, 7(2), 610-618.
- Dimitrellou, D., Kandyli, P., and Kourkoutas, Y.,** 2016, Effect of Cooling Rate, Freeze-Drying, and Storage on Survival of Free and Immobilized *Lactobacillus casei* ATCC 393, *LWT-Food Science and Technology*, 69, 468-473.
- Dimitrellou, D., Kandyli, P., Kokkinomagoulos, E., Hatzikamari, M., and Bekatorou, A.,** 2021, Emmer-Based Beverage Fortified with Fruit Juices, *Applied Sciences*, 11(7), 3116.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Ding, W. K., and Shah, N. P.**, 2008, Survival of Free and Microencapsulated Probiotic Bacteria in Orange and Apple Juices, *International Food Research Journal*, 15(2), 219-32.
- Do Espírito Santo, A. P., Perego, P., Converti, A., and Oliveira, M. N.**, 2011, Influence of Food Matrices on Probiotic Viability–A Review Focusing on The Fruity Bases, *Trends in Food Science & Technology*, 22(7), 377-385
- Doherty, S. B., Wang, L., Ross, R. P., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., and Brodkorb, A.**, 2010, Use of Viability Staining in Combination with Flow Cytometry for Rapid Viability Assessment of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Complex Protein Matrices, *Journal of Microbiological Methods*, 82(3), 301-310.
- Dorey E., Fournier P., Lechaudel M., and Tixier P.**, 2016, A Statistical Model to Predict Titratable Acidity of Pineapple During Fruit Developing Period Responding to Climatic Variables, *Scientia Horticulturae*, 210, 19-24.
- Dos Santos, K. M., de Oliveira, I. C., Lopes, M. A., Cruz, A. P. G., Buriti, F. C., and Cabral, L. M.**, 2017, Addition of Grape Pomace Extract to Probiotic Fermented Goat Milk: The Effect on Phenolic Content, Probiotic Viability and Sensory Acceptability, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(4), 1108-1115.
- Drisko, J. A., Giles, C. K., and Bischoff, B. J.**, 2003, Probiotics in Health Maintenance and Disease Prevention, *Alternative Medicine Review*, 8(2), 143-155.
- Duru, K. C., Kovaleva, E., Danilova, I., and Belousova, A.**, 2019, Production and Assessment of Novel Probiotic Fermented Oat Flour Enriched with Isoflavones, *LWT-Food Science and Technology*, 111, 9-15.
- EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS)**, 2011, Scientific Opinion on Re-Evaluation of Calcium Carbonate (E170) As a Food Additive, *EFSA Journal*, 9(7), 2318.
- Ekbiç, H. B., Yılmaz, G. Ş., ve Ciğerli, S.**, 2015, Isabella (*Vitis labrusca*) Üzüm Çeşidinin In vitro Sürgün Ucu Kültürü ile Çoğaltılması, *Akademik Ziraat Dergisi*, 4(2), 65-70.
- Elejalde Caravaca, M. E., Villarán Velasco, M. C., and Alonso Rojas, R. M.**, 2021, Grape Polyphenols Supplementation for Exercise-Induced Oxidative Stress, *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 18(1), 1-12.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- El-Hameed, A., Mohamed, E., El-Sattar, A., Khalifa, S. A., and El-Neshawy, A. A.,** 2019, An Attempt to Produce Symbiotic Buttermilk Beverages Supplemented with Barley and Oat Flour, *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 46(6), 1985-1994.
- Enujiugha, V. N., and Badejo, A. A.,** 2017, Probiotic Potentials of Cereal-Based Beverages, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(4), 790-804.
- Estévez, V., Ayala, J., Vespa, C., and Araya, M.,** 2016, The Gluten-Free Basic Food Basket: A Problem of Availability, Cost and Nutritional Composition, *European Journal of Clinical Nutrition*, 70(10), 1215.
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization),** 2002, Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, Argentina.
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization),** 2019, Codex General Standard for Food Additives (GSFA), Joint FAO/WHO Codex Alimentarius Commission.
- Fasano, A., Sapone, A., Zevallos, V., and Schuppan, D.,** 2015, Nonceliac Gluten Sensitivity, *Gastroenterology*, 148(6), 1195-1204.
- Fernandes, C. G., Sonawane, S. K., and Arya, S. S.,** 2020, Cereal Based Functional Beverages: A Review, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9(4), 914-919.
- Fonteles, T. V., Costa, M. G. M., de Jesus, A. L. T., Fontes, C. P. M. L., Fernandes, F. A. N., and Rodrigues, S.,** 2013, Stability and Quality Parameters of Probiotic Cantaloupe Melon Juice Produced with Sonicated Juice, *Food and Bioprocess Technology*, 6(10), 2860-2869.
- Garcia, E. F., de Oliveira Araújo, A., Luciano, W. A., de Albuquerque, T. M. R., de Oliveira Arcanjo, N. M., Madruga, M. S., dos Santos Lima, M., Magnani, M., Saarela, M., and de Souza, E. L.,** 2018, The Performance of Five Fruit-Derived and Freeze-Dried Potentially Probiotic *Lactobacillus* Strains in Apple, Orange, and Grape Juices, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(13), 5000-5010.
- Gaschler, M. M., and Stockwell, B. R.,** 2017, Lipid Peroxidation in Cell Death, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482(3), 419-425.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Geana, E. I., Dinca, O. R., Ionete, R. E., Artem, V., and Niculescu, V. C.,** 2015, Monitoring Trans-Resveratrol in Grape Berry Skins During Ripening and in Corresponding Wines by HPLC, *Food Technology and Biotechnology*, 53(1), 73-80.
- Gharbi Yahyaoui, A., Bouzaïene, T., Aouidi, F., Aydi, A., and Hamdi, M.,** 2017, Traditional Cereal Food as Container of Probiotic Bacteria “*L. rhamnosus* GG”: Optimization by Response Surface Methodology, *Journal of Food Quality*, 2017.
- Gibson, G. R., Probert, H. M., Loo, J. V., Rastall, R. A., and Roberfroid, M. B.,** 2004, Dietary Modulation of The Human Colonic Microbiota: Updating the Concept of Prebiotics, *Nutrition Research Reviews*, 17, 259–275.
- Gobilik, J., and Enggihon, J.,** 2019, Some Aspects on Growth, Yield, Phenology and Grape Quality of ‘Isabella’ Grapevine (*Vitis × labruscana*) Planted in Sandakan, Sabah as Ornamental Plant, *Transactions on Science and Technology*, 6, 2-2, 235 - 252.
- Gokavi, S., Zhang, L., Huang, M. K., Zhao, X., and Guo, M.,** 2005, Oat-based Symbiotic Beverage Fermented by *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *casei*, and *Lactobacillus acidophilus*, *Journal of Food Science*, 70(4), M216-M223.
- Gollücke, A.B.P., Catharino R.R., Souza J.C., Eberlin, M.N., and Tavares, D.Q.,** 2009, Evolution of Major Phenolic Components and Radical Scavenging Activity of Grape Juices Through Concentration Process and Storage, *Food Chemistry*, 112, 868–873.
- Gomes, A. M., 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 & Technology*, 10(4-5), 139-157.
- González-Cuello, R. E., Colpas-Castillo, F., and Tarón-Dunoyer, A.,** 2017, Protection of *Lactobacillus acidophilus* Under In vitro Gastrointestinal Conditions Employing Binary Microcapsules Containing Inulin, *African Journal of Biotechnology*, 16(3), 132-138.
- Gradhinta, R. R., Sukamto, B., and Mangisah, I.,** 2020, Effect of Protein and Calcium Microparticle Feeding with *Lactobacillus acidophilus* or Citric Acid on Meat Quality, *Bantara Journal of Animal Science*, 2(1).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Gramza-Michałowska, A., Kmiecik, D., Kobus-Cisowska, J., Żywica, A., Dziedzic, K., and Brzozowska, A.,** 2018, Phytonutrients in Oat (*Avena sativa* L.) Drink: Effect of Plant Extract on Antiradical Capacity, Nutritional Value and Sensory Characteristics, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 68(1), 63-71.
- Granato, D., Katayama, F. C. U., and de Castro, I. A.,** 2011, Phenolic Composition of South American Red Wines Classified According to Their Antioxidant Activity, Retail Price and Sensory Quality, *Food Chemistry*, 129(2), 366–373.
- Granato, D., Magalhães Carrapeiro, M. de, Fogliano, V., and van Ruth, S. M.,** 2016, Effects of Geographical Origin, Varietal and Farming System on The Chemical Composition and Functional Properties of Purple Grape Juices: A Review, *Trends in Food Science & Technology*, 52, 31–48
- Granato, D., Branco, G. F., Nazzaro, F., Cruz, A. G., and Faria, J. A. F.,** 2010, Functional Foods and Non Dairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 292–302.
- Green, P. H., and Cellier, C.,** 2007, Celiac Disease, *New England Journal of Medicine*, 357(17), 1731-1743.
- Grundy, M. M. L., Fardet, A., Tosh, S. M., Rich, G. T., and Wilde, P. J.,** 2018, Processing of Oat: The Impact on Oat's Cholesterol Lowering Effect, *Food & Function*, 9(3), 1328-1343.
- Guimarães, J. T., Balthazar, C. F., Silva, R., Rocha, R. S., Graça, J. S., Esmerino, E. A., Silva, M.C., Sant’Ana, A.S., Duarte, M.C.K.H., Freitas, M.Q., and Cruz, A. G.,** 2020, Impact of Probiotics and Prebiotics on Food Texture, *Current Opinion in Food Science*, 33, 38-44.
- Gupta, M., and Bajaj, B. K.,** 2017, Development of Fermented Oat Flour Beverage as a Potential Probiotic Vehicle, *Food Bioscience*, 20, 104-109.
- Gupta, S., Cox, S., and Abu-Ghannam, N.,** 2010, Process Optimization for The Development of a Functional Beverage Based on Lactic Acid Fermentation of Oats, *Biochemical Engineering Journal*, 52(2-3), 199-204.
- Gupta, V., and Garg, R.,** 2009, Probiotics, *Indian Journal of Medical Microbiology*, 27(3), 202.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Gündüz, G. T., Korkmaz, A., Solak, E., and Sözbir, H. D.,** 2019, Antimicrobial, Antioxidant Activities and Total Phenolic Contents of the Traditional Turkish Beverages Produced by Using Grapes, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(sp1), 119-125.
- Gvinianidze, T. N., Chikovani, P. M., Gvinianidze, T. T., Jabnidze, R. H., and Mindeli, V. A.,** 2017, Colored Grape Polyphenol Concentrate, *Annals of Agrarian Science*, 15(4), 472-475.
- Hassan, A. A., Aly, M. M., and El-Hadidie, S. T.,** 2012, Production of Cereal-Based Probiotic Beverages, *World Applied Sciences Journal*, 19(10), 1367-1380.
- Hassani, A., Zarnkow, M., and Becker, T.,** 2015, Optimisation of Fermentation Conditions for Probiotication of Sorghum Wort by *Lactobacillus acidophilus* La-5, *International Journal of Food Science & Technology*, 50(10), 2271-2279.
- Helland, M. H., Wicklund, T., and Narvhus, J. A.,** 2004, Growth and Metabolism of Selected Strains of Probiotic Bacteria in Milk and Water-Based Cereal Puddings, *International Dairy Journal*, 14(11), 957-965.
- Heller, K. J.,** 2001, Probiotic Bacteria in Fermented Foods: Product Characteristics and Starter Organisms, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 374-379.
- Herrera-Ponce, A., Nevárez-Morillón, G., Ortega-Rivas, E., Pérez-Vega, S., and Salmerón, I.,** 2014, Fermentation Adaptability of Three Probiotic *Lactobacillus* Strains to Oat, Germinated Oat and Malted Oat Substrates, *Letters in Applied Microbiology*, 59(4), 449-456.
- Hervet-Hernández, D., Pintado, C., Rotger, R., and Goñi, I.,** 2009, Stimulatory Role of Grape Pomace Polyphenols on *Lactobacillus acidophilus* Growth, *International Journal of Food Microbiology*, 136(1), 119-122.
- Hole, A. S., Rud, I., Grimmer, S., Sigl, S., Narvhus, J., and Sahlstrøm, S.,** 2012, Improved Bioavailability of Dietary Phenolic Acids in Whole Grain Barley and Oat Groat Following Fermentation with Probiotic *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, and *Lactobacillus reuteri*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(25), 6369-6375.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Holzappel, W. H., and Schillinger, U.,** 2002, Introduction to Pre- and Probiotics, *Food Research International*, 35(2-3), 109-116.
- Horácková, Š., Rokytová, K., Bialasová, K., Kloidová, I., and Sluková, M.,** 2018, Fruit Juices with Probiotics–New Type of Functional Foods, *Czech Journal of Food Sciences*, 36(4), 284-288.
- Horwitz, W.,** 2000, Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists.
- Hutkins, R. W.,** 2008, Microbiology and Technology of Fermented Foods, John Wiley & Sons.
- Hwang, S. J., Ballantyne, C. M., Sharrett, A. R., Smith, L. C., Davis, C. E., Gotto Jr, A. M., and Boerwinkle, E.,** 1997, Circulating Adhesion Molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in Carotid Atherosclerosis and Incident Coronary Heart Disease Cases: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, *Circulation*, 96(12), 4219-4225.
- Isolauri, E., Salminen, S., and Ouwehand, A. C.,** 2004, Probiotics, *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 18(2), 299-313.
- Isrigova, T. A., Salmanov, M. M., Isrigova, V. S., Taibova, D. S., and Sannikova, E. V.,** 2020, Development of a Technology for The Production of a Functional Food Based on Plant Raw Materials, in E3S Web of Conferences, EDP Sciences.
- Jackson, R. S.,** 2008, Wine Science: Principles and Applications, Academic Press.
- Jaskari, J., Kontula, P., Siitonen, A., Jousimies-Somer, H., Mattila-Sandholm, T., and Poutanen, K.,** 1998, Oat β -glucan and Xylan Hydrolysates as Selective Substrates for *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* Strains, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49(2), 175-181.
- Karimi, R., Mortazavian, A. M., and Da Cruz, A. G.,** 2011, Viability of Probiotic Microorganisms in Cheese During Production and Storage: A Review, *Dairy Science & Technology*, 91(3), 283-308.
- Karmally, W., Montez, M. G., Palmas, W., Martinez, W., Branstetter, A., Ramakrishnan, R., Holleran, S.F., Haffner, S.M., and Ginsberg, H. N.,** 2005, Cholesterol-lowering Benefits of Oat-Containing Cereal in Hispanic Americans, *Journal of the American Dietetic Association*, 105(6), 967-970.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Karnopp, A. R., Oliveira, K. G., de Andrade, E. F., Postingher, B. M., and Granato, D.**, 2017, Optimization of an Organic Yogurt Based on Sensorial, Nutritional, and Functional Perspectives, *Food Chemistry*, 233, 401-411.
- Kaur, K. D., Jha, A., Sabikhi, L., and Singh, A. K.**, 2014, Significance of Coarse Cereals in Health and Nutrition: A Review, *Journal of Food Science and Technology*, 51(8), 1429-1441.
- Kavgacı, M.**, 2019, İzabella Üzümünün (*Vitis labrusca* L.) Resveratrol ve Fenolik Kompozisyonu ile Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi, Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kjeldahl, J.**, 1883, New Method for the Determination of Nitrogen, *Chem News*, 48(1240), 101-102.
- Kockova, M., and Valík, L.**, 2014, Development of New Cereal-, Pseudocereal-, and Cereal-Leguminous-Based Probiotic Foods, *Czech Journal of Food Sciences*, 32(4), 391-397.
- Kolożyn-Krajewska, D., and Dolatowski, Z. J.**, 2012, Probiotic Meat Products and Human Nutrition, *Process Biochemistry*, 47(12), 1761-1772.
- Kozłowska, H., Zadernowski, R., and Sosulski, F. W.**, 1983, Phenolic Acids in Oilseed Flours, *Food/Nahrung*, 27(5), 449-453.
- Köse, B.**, 2014, Phenology and ripening of *Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L. Varieties in The Maritime Climate of Samsun in Turkey's Black Sea Region, *S South African Journal for Enology and Viticulture*, 35(1), 90-102.
- Kulakiotu, E. K., Thanassouloupoulos, C. C., and Sfakiotakis, E. M.**, 2004, Biological Control of *Botrytis cinerea* by Volatiles of 'Isabella' Grapes, *Phytopathology*, 94(9), 924-931.
- Kumar, B. V., Vijayendra, S. V. N., and Reddy, O. V. S.**, 2015, Trends in Dairy and Non-Dairy Probiotic Products – A Review, *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6112-6124.
- Kurt, A., Torun, H., Colak, N., Seiler, G., Hayirlioglu-Ayaz, S., and Ayaz, F. A.**, 2017, Nutrient Profiles of the Hybrid Grape Cultivar 'Isabel' During Berry Maturation and Ripening, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(8), 2468-2479.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Kurt-Celebi, A., Colak, N., Hayirlioglu-Ayaz, S., Kostadinović Veličkovska, S., Ilieva, F., Esatbeyoglu, T., and Ayaz, F. A.,** 2020, Accumulation of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity During Berry Development in Black ‘Isabel’ Grape (*Vitis vinifera* L. x *Vitis labrusca* L.), *Molecules*, 25(17), 3845.
- Kyung, Y. Y., Woodams, E. E., and Hang, Y. D.,** 2005, Fermentation of Beet Juice by Beneficial Lactic Acid Bacteria, *LWT-Food Science and Technology*, 38(1), 73-75.
- Lambo, A. M., Öste, R., and Nyman, M. E. L.,** 2005, Dietary Fibre in Fermented Oat and Barley β -glucan Rich Concentrates, *Food Chemistry*, 89(2), 283-293.
- Lamsal, B. P., and Faubion, J. M.,** 2009, The Beneficial Use of Cereal and Cereal Components in Probiotic Foods, *Food Reviews International*, 25(2), 103-114.
- Lebaka, V. R., Wee, Y. J., Narala, V. R., and Joshi, V. K.,** 2018, Development of New Probiotic Foods – A Case Study on Probiotic Juices, *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods*, 55-78.
- Lee, Y. K., and Salminen, S.,** 2009, Handbook of Probiotics and Prebiotics, John Wiley & Sons.
- Leroy, F., and De Vuyst, L.,** 2004, Lactic Acid Bacteria as Functional Starter Cultures for the Food Fermentation Industry, *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67-78.
- Lima, M. D. S., Silani, I. D. S. V., Toaldo, I. M., Corrêa, L. C., Biasoto, A. C. T., Pereira, G. E., and Ninow, J. L.,** 2014, Phenolic Compounds, Organic Acids and Antioxidant Activity of Grape Juices Produced from New Brazilian Varieties Planted in The Northeast Region of Brazil, *Food Chemistry*, 161, 94-103.
- Lima, M. S., Dutra, M. D. C. P., Toaldo, I. M., Corrêa, L. C., Pereira, G. E., de Oliveira, D., Bordignon-Luiz, M.T., and Ninow, J. L.,** 2015, Phenolic Compounds, Organic Acids and Antioxidant Activity of Grape Juices Produced in Industrial Scale by Different Processes of Maceration, *Food Chemistry*, 188, 384-392.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Liptáková, D., Matejčková, Z., and Valík, L.**, 2017, Lactic Acid Bacteria and Fermentation of Cereals and Pseudocereals, *Fermentation Processes*, 10, 65459, 225-253.
- Liu, J., Jin, S., Song, H., Huang, K., Li, S., Guan, X., and Wang, Y.**, 2020, Effect of Extrusion Pretreatment on Extraction, Quality and Antioxidant Capacity of Oat (*Avena sativa* L.) Bran Oil, *Journal of Cereal Science*, 95, 102972.
- Locatelli, M., Gindro, R., Travaglia, F., Coïsson, J. D., Rinaldi, M., and Arlorio, M.**, 2009, Study of the DPPH-Scavenging Activity: Development of a Free Software for The Correct Interpretation of Data, *Food Chemistry*, 114(3), 889-897.
- Lu, R., Fasano, S., Madayiputhiya, N., Morin, N. P., Nataro, J., and Fasano, A.**, 2009, Isolation, Identification, and Characterization of Small Bioactive Peptides from *Lactobacillus* GG Conditional Media That Exert Both Anti-Gram-negative and Gram-positive Bactericidal Activity, *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 49(1), 23-30.
- Lu, Y., Tan, C. W., Chen, D., and Liu, S. Q.**, 2018, Potential of Three Probiotic *Lactobacilli* in Transforming Star Fruit Juice into Functional Beverages, *Food Science & Nutrition*, 6(8), 2141-2150.
- Luana, N., Rossana, C., Curiel, J. A., Kaisa, P., Marco, G., and Rizzello, C. G.**, 2014, Manufacture and Characterization of a Yogurt-Like Beverage Made with Oat Flakes Fermented by Selected Lactic Acid Bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, 185, 17-26.
- Luckow, T., and Delahunty, C.**, 2004, Which Juice Is ‘Healthier’ a Consumer Study of Probiotic Non-Dairy Juice Drinks, *Food Quality and Preference*, 15(7-8), 751-759.
- Luckow, T., Sheehan, V., Fitzgerald, G., and Delahunty, C.**, 2006, Exposure, Health Information and Flavour-Masking Strategies for Improving the Sensory Quality of Probiotic Juice, *Appetite*, 47(3), 315-323.
- Malganji, S., Sohrabvandi, S., Jahadi, M., Nematollahi, A., and Sarmadi, B.**, 2016, Effect of Refrigerated Storage on Sensory Properties and Viability of Probiotic in Grape Drink, *Applied Food Biotechnology*, 3(1), 59-62.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Mammadova, S. M., Fataliyev, H. K., Gadimova, N. S., Aliyeva, G. R., TAGIYEV, A. T., and Baloglanova, K. V.,** 2020, Production of Functional Products Using Grape Processing Residuals, *Food Science and Technology*.
- Mantzourani, I., Nouska, C., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Panayiotidis, M. I., Galanis, A., and Plessas, S,** 2018, Production of a Novel Functional Fruit Beverage Consisting of Cornelian Cherry Juice and Probiotic Bacteria, *Antioxidants*, 7(11), 163.
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, O., Pihlanto, A., Hutkins, R., and Smid, E. J,** 2017, Health Benefits of Fermented Foods: Microbiota and Beyond, *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 94-102.
- Marsh, A. J., Hill, C., Ross, R. P., and Cotter, P. D.,** 2014, Fermented Beverages with Health-Promoting Potential: Past and Future Perspectives, *Trends in Food Science & Technology*, 38(2), 113-124.
- Martin, J. G. P., Porto, E., Corrêa, C. B., Alencar, S. M., Gloria, E. M., Cabral, I. S. R., and Aquino, L. M,** 2012, Antimicrobial Potential and Chemical Composition of Agro-Industrial Wastes, *Journal of Natural Products*, 5, 27-36.
- Martinez-Villaluenga, C., and Peñas, E,** 2017, Health Benefits of Oat: current Evidence and Molecular Mechanisms, *Current Opinion in Food Science*, 14, 26-31.
- Martins, E. M. F., Ramos, A. M., Vanzela, E. S. L., Stringheta, P. C., de Oliveira Pinto, C. L., and Martins, J. M.,** 2013, Products of Vegetable Origin: a New Alternative for The Consumption of Probiotic Bacteria, *Food Research International*, 51(2), 764-770.
- Masiá, C., Jensen, P. E., and Buldo, P,** 2020, Effect of *Lactobacillus rhamnosus* on Physicochemical Properties of Fermented Plant-Based Raw Materials, *Foods*, 9(9), 1182.
- Matijević, B., and Vinko, I,** 2011, Growth and Survival of Probiotic Bacteria in Oat-based Suspension Enriched with Glucose, *Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists*, 28.
- Mattes, R. D., and Mela, D. J.,** 1986, Relationships Between and Among Selected Measures of Sweet-Taste Preference and Dietary Intake, *Chemical Senses*, 11(4), 523-539.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondén, R., and Saarela, M.,** 2002, Technological Challenges for Future Probiotic Foods, *International Dairy Journal*, 12(2-3), 173-182.
- McKevith, B.,** 2004, Nutritional aspects of cereals, *Nutrition Bulletin*, 29(2), 111-142.
- Meldrum, F. C.,** 2003, Calcium Carbonate in Biomineralisation and Biomimetic Chemistry, *International Materials Reviews*, 48(3), 187-224.
- Mensink, M. A., Frijlink, H. W., van der Voort Maarschalk, K., and Hinrichs, W. L.,** 2015, Inulin, a Flexible Oligosaccharide I: Review of Its Physicochemical Characteristics, *Carbohydrate Polymers*, 130, 405-419.
- Mihailovic-Stanojevic, N., Savikin, K., Zivkovic, J., Zdunic, G., Miloradovic, Z., Ivanov, M., Karanovic, D., Vajic, U.J., Jovovic, D., and Grujic-Milanovic, J.,** 2016, Moderate Consumption of Alcohol-Free Red Wine Provide More Beneficial Effects on Systemic Hemodynamics, Lipid Profile and Oxidative Stress in Spontaneously Hypertensive Rats Than Red Wine, *Journal of Functional Foods*, 26, 719-730.
- Miranda, R. F., de Paula, M. M., da Costa, G. M., Barão, C. E., da Silva, A. C. R., Raices, R. S. L., Gomez, R.G., and Pimentel, T. C.,** 2019, Orange Juice Added with *L. casei*: Is There an Impact of The Probiotic Addition Methodology on The Quality Parameters?, *LWT-Food Science and Technology*, 106, 186-193.
- Modzelewska-Kapitula, M., and Klebukowska, L.,** 2009, Investigation of The Potential for Using Inulin HPX as a Fat Replacer in Yoghurt Production, *International Journal of Dairy Technology*, 62, 209–214.
- Mohamadi, J., and Havasian, M. R.,** 2018, The Study of Inhibitory Effect of Aqueous Extract Leaf of *Avicennia marina* (Hara) on *Candida albicans*, *In-vitro*, *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 9(1).
- Mokhtari, S., Jafari, S. M., and Khomeiri, M.,** 2019, Survival of Encapsulated Probiotics in Pasteurized Grape Juice and Evaluation of Their Properties During Storage, *Food Science and Technology International*, 25(2), 120-129.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Mortazavian, A. M., Khosrokhavar, R., Rastegar, H., and Mortazaei, G. R.,** 2010, Effects of Dry Matter Standardization Order on Biochemical and Microbiological Characteristics of Freshly Made Probiotic Doogh (Iranian Fermented Milk Drink), *Italian Journal of Food Science*, 22(1).
- Moser, P., Telis, V. R. N., de Andrade Neves, N., García-Romero, E., Gómez-Alonso, S., and Hermosín-Gutiérrez, I.,** 2017, Storage Stability of Phenolic Compounds in Powdered BRS Violeta Grape Juice Microencapsulated with Protein and Maltodextrin Blends, *Food Chemistry*, 214, 308-318.
- Mota, R. V. D., Glória, M. B. A., Souza, B. S. D., Peregrino, I., Pimentel, R. M. D. A., Dias, F. A. N., Souza, L. C., Souza, A.L., and Regina, M. D. A.,** 2017, Bioactive Compounds and Juice Quality from Selected Grape Cultivars, *Bragantia*, 77(1), 62-73.
- Nagpal, R., Kumar, A., Kumar, M., Behare, P. V., Jain, S., and Yadav, H.,** 2012, Probiotics, Their Health Benefits and Applications for Developing Healthier Foods: A Review, *FEMS Microbiology Letters*, 334(1), 1-15.
- Nandy, S. K., and Venkatesh, K. V.,** 2010, Application of Methylene Blue Dye Reduction Test (MBRT) to Determine Growth and Death Rates of Microorganisms, *African Journal of Microbiology Research*, 4(1), 61-70.
- Nguyen, B. T., Bujna, E., Fekete, N., Tran, A., Rezessy-Szabo, J. M., Prasad, R., and Nguyen, Q. D.,** 2019, Probiotic Beverage from Pineapple Juice Fermented with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Strains, *Frontiers in Nutrition*, 6, 54.
- Nie, L., Wise, M. L., Peterson, D. M., and Meydani, M.,** 2006, Avenanthramide, a Polyphenol from Oats, Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Enhances Nitric Oxide Production, *Atherosclerosis*, 186(2), 260-266.
- Nieto, J. A., Soriano-Romaní, L., Tomás-Cobos, L., Sharma, L., and Budde, T.,** 2021, Improved In-vitro Bioavailability of a Newly Developed Functionalized Calcium Carbonate Salt as a Food Ingredient and Its Comparison with Available Commercial Calcium Salts, *Food Chemistry*, 348, 128740.
- Nixdorf, S. L., and Hermosín-Gutiérrez, I.,** 2010, Brazilian Red Wines Made from The Hybrid Grape Cultivar Isabel: Phenolic Composition and Antioxidant Capacity, *Analytica Chimica Acta*, 659(1-2), 208-215.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Nuallkaekul, S., and Charalampopoulos, D.,** 2011, Survival of *Lactobacillus plantarum* in Model Solutions and Fruit Juices, *International Journal of Food Microbiology*, 146(2), 111-117.
- Ogino, T., Suzuki, T., and Sawada, K.,** 1987, The Formation and Transformation Mechanism of Calcium Carbonate in Water, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 51(10), 2757-2767.
- Okina, V. S., Porto, M. R. A., Pimentel, T. C., and Prudencio, S. H.,** 2018, White Grape Juice Added with *Lactobacillus paracasei* ssp. Probiotic Culture, *Nutrition & Food Science*.
- Olivares, A., Soto, C., Caballero, E., and Altamirano, C.,** 2019, Survival of Microencapsulated *Lactobacillus casei* (Prepared by Vibration Technology) in Fruit Juice During Cold Storage, *Electronic Journal of Biotechnology*, 42, 42-48.
- Önneby, K., Pizzul, L., Bjerketorp, J., Mahlin, D., Håkansson, S., and Wessman, P.,** 2013, Effects of Di- and Polysaccharide Formulations and Storage Conditions on Survival of Freeze-Dried *Sphingobium* sp., *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(8), 1399-1408.
- Ooi, S. L., Correa, D., and Pak, S. C.,** 2019, Probiotics, Prebiotics, and Low FODMAP Diet for Irritable Bowel Syndrome – What Is The Current Evidence?, *Complementary Therapies in Medicine*, 43, 73-80.
- Oruç, F. Ç. S., and Dursun, S.,** 2017, Berry Fruits Grown in Duzce and Its Neighborhood: Their Medical Applications, *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(3), S338-S340.
- Owuama, C. I.,** 2017, Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) Using a Novel Dilution Tube Method, *African Journal of Microbiology Research*, 11(23), 977-980.
- Ozcan, T., Yilmaz-Ersan, L., Akpinar-Bayazit, A., Delikanli, B., and Barat, A.,** 2015, Survival of *Lactobacillus* spp. in Fruit Based Fermented Dairy Beverages, *International Journal of Food Engineering*, 1(1), 44-49.
- Özüğür, G., ve Hayta, M.,** 2011, Tahıl Esaslı Glutensiz Ürünlerin Besinsel ve Teknolojik Özelliklerinin İyileştirilmesi, *Gıda/The Journal of FOOD*, 36(5).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Pacifico, S., D'Abrosca, B., Scognamiglio, M., Gallicchio, M., Potenza, N., Piccolella, S., Russo, A., Monaco, P., and Fiorentino, A.,** 2011, Metabolic Profiling of Strawberry Grape (*Vitis × labruscana* cv. 'Isabella') Components by Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and Evaluation of Their Antioxidant and Antiproliferative Properties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 7679-7687.
- Padilha, C. V., Miskinis, G. A., de Souza, M. E. A. O., Pereira, G. E., de Oliveira, D., Bordignon-Luiz, M. T., and dos Santos Lima, M.,** 2017, Rapid Determination of Flavonoids and Phenolic Acids in Grape Juices and Wines by RP-HPLC/DAD: Method Validation and Characterization of Commercial Products of the New Brazilian Varieties of Grape, *Food Chemistry*, 228, 106-115.
- Pakbin, B., Razavi, S. H., Mahmoudi, R., and Gajarbeygi, P.,** 2014, Producing Probiotic Peach Juice, *Biotechnology and Health Sciences*.
- Pandey, S. M., and Mishra, H. N.,** 2015, Optimization of The Prebiotic & Probiotic Concentration and Incubation Temperature for the Preparation of Synbiotic Soy Yoghurt Using Response Surface Methodology, *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 458-467.
- Panghal, A., Janghu, S., Virkar, K., Gat, Y., Kumar, V., and Chhikara, N.,** 2018, Potential Non-Dairy Probiotic Products—A Healthy Approach, *Food Bioscience*, 21, 80-89.
- Paredes Tuanama, H. S.,** 2019, Cuantificación de Antocianinas Por El Método De pH Diferencial Del Fruto De La Uva Isabella (*Vitis labrusca*) Procedente Del Distrito De San Antonio De Cumbaza, Universidad Nacional De San Martín.
- Patel, A. R.,** 2017, Probiotic Fruit and Vegetable Juices-Recent Advances and Future Perspective, *International Food Research Journal*, 24(5), 1850-1857.
- Pejin, J., Radosavljević, M., Mojović, L., Kocić-Tanackov, S., and Djukić-Vuković, A.,** 2015, The Influence of Calcium-Carbonate and Yeast Extract Addition on Lactic Acid Fermentation of Brewer's Spent Grain Hydrolysate, *Food Research International*, 73, 31-37.
- Pereira, A. L. F., Maciel, T. C., and Rodrigues, S.,** 2011, Probiotic Beverage from Cashew Apple Juice Fermented with *Lactobacillus casei*, *Food Research International*, 44(5), 1276-1283.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Pereira, A. L. F., and Rodrigues, S.,** 2018, Turning Fruit Juice into Probiotic Beverages, Fruit Juices, Academic Press, 279-287.
- Peres, C. M., Peres, C., Hernández-Mendoza, A., and Malcata, F. X.,** 2012, Review on Fermented Plant Materials as Carriers and Sources of Potentially Probiotic Lactic Acid Bacteria— with an Emphasis on Table Olives, *Trends in Food Science & Technology*, 26, 31–42.
- Perricone, M., Bevilacqua, A., Altieri, C., Sinigaglia, M., and Corbo, M. R.,** 2015, Challenges for The Production of Probiotic Fruit Juices, *Beverages*, 1(2), 95-103.
- Perrone, G., Nicoletti, I., Pascale, M., De Rossi, A., De Girolamo, A., and Visconti, A.,** 2007, Positive Correlation Between High Levels of Ochratoxin A and Resveratrol-Related Compounds in Red Wines, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(16), 6807-6812.
- Peyer, L. C., Zannini, E., and Arendt, E. K.,** 2016, Lactic Acid Bacteria as Sensory Biomodulators for Fermented Cereal-Based Beverages, *Trends in Food Science & Technology*, 54, 17-25.
- Pimentel, T. C., Madrona, G. S., Garcia, S., and Prudencio, S. H.,** 2015, Probiotic Viability, Physicochemical Characteristics and Acceptability During Refrigerated Storage of Clarified Apple Juice Supplemented with *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* and Oligofructose in Different Package Type, *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 415-422.
- Piqué, N., Berlanga, M., and Miñana-Galbís, D.,** 2019, Health Benefits of Heat-Killed (Tyndallized) Probiotics: An Overview, *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2534.
- Profir, A. G., Neagu, C. V., and Vizireanu, C.,** 2015, Impact of Nutrients on the Probiotic Survival and Sensory Properties of Vegetables Juice, *Romanian Biotechnological Letters*, 20(6), 11041.
- Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Adams, M. C., and Baines, S. K.,** 2012, Probiotic Viability and Physico-Chemical and Sensory Properties of Plain and Stirred Fruit Yogurts Made from Goat's Milk, *Food Chemistry*, 135(3), 1411-1418.
- Ranadheera, R. D. C. S., Baines, S. K., and Adams, M. C.,** 2010, Importance of Food in Probiotic Efficacy, *Food Research International*, 43, 1–7.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Randazzo, W., Corona, O., Guarcello, R., Francesca, N., Germana, M. A., Erten, H., Moschetti, G., and Settanni, L.,** 2016, Development of New Non-Dairy Beverages from Mediterranean Fruit Juices Fermented with Water Kefir Microorganisms, *Food Microbiology*, 54, 40-51.
- Rathore, S., Salmerón, I., and Pandiella, S. S.,** 2012, Production of Potentially Probiotic Beverages Using Single and Mixed Cereal Substrates Fermented with Lactic Acid Bacteria Cultures, *Food Microbiology*, 30(1), 239-244.
- Ravindran, S., and RadhaiSri, S.,** 2020, Probiotic Oats Milk Drink with Microencapsulated *Lactobacillus plantarum* – An Alternative to Dairy Products, *Nutrition & Food Science*.
- Ray, B., and Bhunia, A.,** 2007, Fundamental Food Microbiology, CRC press.
- Raymond Eder, M. L., Reynoso, C., Lauret, S. C., and Rosa, A. L.,** 2017, Isolation and Identification of the Indigenous Yeast Population During Spontaneous Fermentation of Isabella (*Vitis labrusca* L.) Grape Must, *Frontiers in Microbiology*, 8, 532.
- Raymond Eder, M. L., and Rosa, A. L.,** 2019, Yeast Diversity in *Vitis* Non-vinifera Ecosystems, *Revista Argentina de Microbiología*.
- Rebello, C. J., O'neil, C. E., and Greenway, F. L.,** 2015, Dietary Fiber and Satiety: The Effects of Oats on Satiety, *Nutrition Reviews*, 74(2), 131-147.
- Roberfroid, M. B.,** 2000, Prebiotics and Probiotics: Are They Functional Foods?, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6), 1682-1687.
- Roberfroid, M. B.,** 2007, Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients, *Journal of Nutrition*, 137, 2493–2502.
- Rodrigues, F. J., Cedran, M. F., Bicas, J. L., and Sato, H. H.,** 2020, Encapsulated Probiotic Cells: Relevant Techniques, Natural Sources as Encapsulating Materials and Food Applications-A Narrative Review, *Food Research International*, 137(109682.10), 1016.
- Rosa, M. C., Carmo, M. R., Balthazar, C. F., Guimarães, J. T., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Silva, M.C., Pimentel, T.C., and Cruz, A. G.,** 2021, Dairy Products with Prebiotics: An Overview of The Health Benefits, Technological and Sensory Properties, *International Dairy Journal*, 105009.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Rozada-Sánchez, R., Sattur, A. P., Thomas, K., and Pandiella, S. S.**, 2008, Evaluation of *Bifidobacterium* spp. for The Production of a Potentially Probiotic Malt-Based Beverage, *Process Biochemistry*, 43(8), 848-854.
- Russo, P., de Chiara, M. L. V., Capozzi, V., Arena, M. P., Amodio, M. L., Rascón, A., Dueñas, M.T., López, P., and Spano, G.**, 2016, *Lactobacillus plantarum* Strains for Multifunctional Oat-Based Foods, *LWT-Food Science and Technology*, 68, 288-294.
- Saarela, M., Virkajärvi, I., Nohynek, L., Vaari, A., and Mäntö, J.**, 2006, Fibres as Carriers for *Lactobacillus rhamnosus* During Freeze-Drying and Storage in Apple Juice and Chocolate-Coated Breakfast Cereals, *International Journal of Food Microbiology*, 112(2), 171-178.
- Salari, M., Razavi, S. H., and Gharibzahedi, S. M. T.**, 2015, Characterising the Synbiotic Beverages Based on Barley and Malt Flours Fermented by *Lactobacillus delbrueckii* and *paracasei* Strains, *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 7(3), 355-361.
- Salman, K. H., Mansour, A. I., Tammam, A. A., and El-Gazzar, F. E.**, 2012, Utilization of Egg-Shell Powder as a Calcium Fortifier in Stirred Dibil Probiotic Yoghurt, *Assiut Journal Agriculture Science*, 43(1).
- Salmerón, I., Thomas, K., and Pandiella, S. S.**, 2015, Effect of Potentially Probiotic Lactic Acid Bacteria on The Physicochemical Composition and Acceptance of Fermented Cereal Beverages, *Journal of Functional Foods*, 15, 106-115.
- Sangwan, S., and Singh, R.**, 2018, Synergistic Effect of Oats and LGG Fermented Milk on Lowering Hypercholesterolemia in Rats, *Journal of Cereal Science*, 82, 164-169.
- Santos, L. P., Morais, D. R., Souza, N. E., Cottica, S. M., Boroski, M., and Visentainer, J. V.**, 2011, Phenolic Compounds and Fatty Acids in Different Parts of *Vitis labrusca* and *V. vinifera* Grapes, *Food Research International*, 44(5), 1414-1418.
- Saturni, L., Ferretti, G., and Bacchetti, T.**, 2010, The Gluten-Free Diet: Safety and Nutritional Quality, *Nutrients*, 2(1), 16-34.
- Schwan, R. F., and Ramos, C. L.**, 2019, Functional Beverages from Cereals, in *Functional and Medicinal Beverages*, Academic Press, 351-379.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Semjonovs, P., Danilevics, A., Upite, D., Kaminska, E., Runca, E., Marauska, M., and Bekers, M.,** 2008, Synbiotic Properties of Functional Food Additive from Jerusalem Artichoke Tubers in Regard to Lactic Acid Bacteria Starter Cultures for Fermented Foods, *FOODBALT-2008*, 30.
- Sethi, S., Tyagi, S. K., and Anurag, R. K.,** 2016, Plant-Based Milk Alternatives an Emerging Segment of Functional Beverages: A Review, *Journal of Food Science and Technology*, 53(9), 3408-3423.
- Shafiee, G., Mortazavian, A. M., Mohammadifar, M. A., Koushki, M. R., Mohammadi, A., and Mohammadi, R.,** 2010, Combined Effects of Dry Matter Content, Incubation Temperature and Final pH of Fermentation on Biochemical and Microbiological Characteristics of Probiotic Fermented Milk, *African Journal of Microbiology Research*, 4(12), 1265-1274.
- Shah, N. P.,** 2000, Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods, *Journal of Dairy Science*, 83(4), 894-907.
- Sharanagouda, B., Shankarlingayya, V. S., and Arora, S.,** 2019, Optimization of Inoculation Level of Probiotics (*L. acidophilus* LA5 & *B. bifidum* BB12) on the Quality Parameters of Whey Protein Enriched Probiotic Concentrated Yoghurt, *Haryana Veterinarian*, 58(2), 220-223.
- Sharma, P., Trivedi, N., and Gat, Y.,** 2017, Development of Functional Fermented Whey–Oat-Based Product Using Probiotic Bacteria, *3 Biotech*, 7(4), 1-8.
- Sharma, V., and Mishra, H. N.,** 2013, Fermentation of Vegetable Juice Mixture by Probiotic Lactic Acid Bacteria, *Nutrafoods*, 12(1), 17-22.
- Sheehan, V. M., Ross, P., and Fitzgerald, G. F.,** 2007, Assessing the Acid Tolerance and The Technological Robustness of Probiotic Cultures for Fortification in Fruit Juices, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(2), 279-284.
- Shori, A. B.,** 2015, The Potential Applications of Probiotics on Dairy and Non-Dairy Foods Focusing on Viability During Storage, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(4), 423-431.
- Shori, A. B.,** 2016, Influence of Food Matrix on the Viability of Probiotic Bacteria: A Review Based on Dairy and Non-Dairy Beverages, *Food Bioscience*, 13, 1-8.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Sidira, M., Santarmaki, V., Kiourtzidis, M., Argyri, A. A., Papadopoulou, O. S., Chorianopoulos, N., Tassou, C., Kaloutsas, S., Galanis, A., and Kourkoutas, Y.,** 2017, Evaluation of Immobilized *Lactobacillus plantarum* 2035 on Whey Protein as Adjunct Probiotic Culture in Yoghurt Production, *LWT-Food Science and Technology*, 75, 137-146.
- Silva Haas, I. C., Toaldo, I. M., Burin, V. M., and Bordignon-Luiz, M. T.,** 2018, Extraction Optimization for Polyphenolic Profiling and Bioactive Enrichment of Extractives of Non-Pomace Residue from Grape Processing, *Industrial Crops and Products*, 112, 593-601.
- Silva, S. B., and Ferrari, J.,** 2016, Development of Probiotic Grape Juice and *Lactobacillus paracasei* Viability Under Cold Storage, X CIGR Section 4th International Technical Symposium, São Leopoldo, Brasil.
- Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N., and Jayaprakasha, G. K.,** 2002, Studies on The Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using In vitro Models, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 81-86.
- Singh, R., De, S., and Belkheir, A.,** 2013, *Avena sativa* (Oat), a Potential Nutraceutical and Therapeutic Agent: An Overview, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(2), 126-144.
- Singla, V., and Chakkaravarthi, S.,** 2017, Applications of Prebiotics in Food Industry: A Review, *Food Science and Technology International*, 23(8), 649-667.
- Singleton, V. L., and Rossi, J. A.,** 1965, Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Solak, E.,** 2012, The Development of Powdery Mildew-Tolerant Grape Cultivars with Standard Quality Characteristics by Cross-Breeding, *African Journal of Agricultural Research*, 7(9), 1374-1380.
- Sridhar, K., and Charles, A. L.,** 2019, In vitro Antioxidant Activity of Kyoho Grape Extracts in DPPH and ABTS Assays: Estimation Methods for EC50 Using Advanced Statistical Programs, *Food Chemistry*, 275, 41-49.
- Stanton, C., Gardiner, G., Meehan, H., Collins, K., Fitzgerald, G., Lynch, P. B., and Ross, R. P.,** 2001, Market Potential for Probiotics, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 476-483.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Stebbins, B.**, 2018, Pre-Harvest Glyphosate Timing in Oats and Final Oat Quality.
- Steinkraus, K. H.**, 1997, Classification of Fermented Foods: Worldwide Review of Household Fermentation Techniques, *Food Control*, 8(5-6), 311-317.
- Sterna, V., Zute, S., and Brunava, L.**, 2016, Oat Grain Composition and Its Nutrition Benefice, *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 8, 252-256.
- Stringheta, P. C., Oliveira, T. T., Gomes, R. C., Amaral, M. P.H., Carvalho, A. F., and Vilela, M. A. P.**, 2007, Health Policies and Functional Property and Health Claims for Food in Brazil, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 43, 181–194.
- Synytsya, A., Míčková, K., Synytsya, A., Jablonský, I., Spěváček, J., Erban, V., Kovářiková, E., and Čopíková, J.**, 2009, Glucans from Fruit Bodies of Cultivated Mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and Potential Prebiotic Activity, *Carbohydrate Polymers*, 76(4), 548-556.
- Szeleszczuk, Ł., Pisklak, D. M., Kuras, M., and Wawer, I.**, 2015, In vitro Dissolution of Calcium Carbonate from The Chicken Eggshell: A Study of Calcium Bioavailability, *International Journal of Food Properties*, 18(12), 2791-2799.
- Talwalkar, A., and Kailasapathy, K.**, 2003, Metabolic and Biochemical Responses of Probiotic Bacteria to Oxygen, *Journal of Dairy Science*, 86(8), 2537-2546.
- Talwalkar, A., and Kailasapathy, K.**, 2004, The Role of Oxygen in the Viability of Probiotic Bacteria with Reference to *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp., *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 5(1), 1-8.
- Tangolar, S. G., Özoğul, Y., Tangolar, S., and Torun, A.**, 2009, Evaluation of Fatty Acid Profiles and Mineral Content of Grape Seed Oil of Some Grape Genotypes, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(1), 32-39.
- Teixeira, P., Castro, H., and Kirby, R.**, 1994, Inducible Thermotolerance in *Lactobacillus bulgaricus*, *Letters in Applied Microbiology*, 18(4), 218-221.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Tharmaraj, N., and Shah, N. P.**, 2003, Selective Enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *propionibacteria*, *Journal of Dairy Science*, 86(7), 2288-2296.
- Thies, F., Masson, L. F., Boffetta, P., and Kris-Etherton, P.**, 2014, Oats and CVD Risk Markers: A Systematic Literature Review, *British Journal of Nutrition*, 112(S2), 19-30.
- Thompson, T., Dennis, M., Higgins, L. A., Lee, A. R., and Sharrett, M. K.**, 2005, Gluten-Free Diet Survey: Are Americans with Coeliac Disease Consuming Recommended Amounts of Fibre, Iron, Calcium and Grain Foods, *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 18(3), 163-169.
- Thongaram, T., Hoeflinger, J. L., Chow, J., and Miller, M. J.**, 2017, Human Milk Oligosaccharide Consumption by Probiotic and Human-Associated *Bifidobacteria* and *Lactobacilli*, *Journal of Dairy Science*, 100(10), 7825-7833.
- Toaldo, I. M., Cruz, F. A., de Lima Alves, T., de Gois, J. S., Borges, D. L., Cunha, H. P., da Silva, E. L., and Bordignon-Luiz, M. T.**, 2015, Bioactive Potential of *Vitis labrusca* L. Grape Juices from The Southern Region of Brazil: Phenolic and Elemental Composition and Effect on Lipid Peroxidation in Healthy Subjects, *Food Chemistry*, 173, 527-535.
- Toaldo, I. M., Fogolari, O., Pimentel, G. C., de Gois, J. S., Borges, D. L., Caliari, V., and Bordignon-Luiz, M.**, 2013, Effect of Grape Seeds on The Polyphenol Bioactive Content and Elemental Composition by ICP-MS of Grape Juices from *Vitis labrusca* L., *LWT-Food Science and Technology*, 53(1), 1-8.
- Tonguc, I. E., and Karagözlü, C.**, 2013, Galactosemia, Diet and Dairy Products: A Review, *Agro Food Industry Hi-Tech*, 24, 60-63, 2013.
- Trailokya, A., Srivastava, A., Bhole, M., and Zalte, N.**, 2017, Calcium and Calcium Salts, *Journal of The Association of Physicians of India*, 65(2), 100-3.
- Tripathi, M. K., and Giri, S. K.**, 2014, Probiotic Functional Foods: Survival of Probiotics During Processing and Storage, *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Tyl, C., and Sadler, G. D.**, 2017, pH and Titratable Acidity, Food Analysis, 389-406, Springer.
- Urgu, M., Saatli, T. E., Türk, A., and Koca, N.**, 2017, Determination of Hydroxymethylfurfural Content of Heat-Treated Milk (Pasteurized, UHT and Lactose-Hydrolysed UHT Milk). *Akademik Gıda*, 15(3), 249-255.
- USDA**, 2020, World Agricultural Production, Circular series WAP 4-20, April 2020, Foreign Agricultural Service, <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf> (Erişim Tarihi: 13 Şubat 2021).
- Valero-Cases, E., Roy, N. C., Frutos, M. J., and Anderson, R. C.**, 2017, Influence of the Fruit Juice Carriers on the Ability of *Lactobacillus plantarum* DSM20205 to Improve *In vitro* Intestinal Barrier Integrity and Its Probiotic Properties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(28), 5632-5638.
- van Dorsten, F. A., Grün, C. H., van Velzen, E. J., Jacobs, D. M., Draijer, R., and van Duynhoven, J. P.**, 2010, The Metabolic Fate of Red Wine and Grape Juice Polyphenols in Humans Assessed by Metabolomics, *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(7), 897-908.
- Vasconcelos, B. G., Martinez, R. C. R., de Castro, I. A., and Saad, S. M. I.**, 2014, Innovative Açaí (*Euterpe oleracea*, Mart., Arecaceae) Functional Frozen Dessert Exhibits High Probiotic Viability Throughout Shelf-Life and Supplementation with Inulin Improves Sensory Acceptance, *Food Science and Biotechnology*, 23(6), 1843-1849.
- Vasquez Orejarena, E. G.**, 2016, Development of a Functional Shelf Stable High Protein Dairy Beverage with Oat-beta-glucan, Doctoral dissertation, The Ohio State University.
- Viscidi, K. A., Dougherty, M. P., Briggs, J., and Camire, M. E.**, 2004, Complex Phenolic Compounds Reduce Lipid Oxidation in Extruded Oat Cereals, *LWT-Food Science and Technology*, 37(7), 789-796.
- Vodnar, D. C., Călinoiu, L. F., Dulf, F. V., Ștefănescu, B. E., Crișan, G., and Socaciu, C.**, 2017, Identification of The Bioactive Compounds and Antioxidant, Antimutagenic and Antimicrobial Activities of Thermally Processed Agro-Industrial Waste, *Food chemistry*, 231, 131-140.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Wang, C., Liang, S., Wang, H., and Guo, M.,** 2018, Physiochemical Properties and Probiotic Survivability of Symbiotic Oat-Based Beverage, *Food Science and Biotechnology*, 27(3), 735-743.
- Waters, D. M., Mauch, A., Coffey, A., Arendt, E. K., and Zannini, E.,** 2015, Lactic Acid Bacteria as a Cell Factory for The Delivery of Functional Biomolecules and Ingredients in Cereal-Based Beverages: A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(4), 503-520.
- Welch, R. W. (Ed.),** 2012, The Oat Crop: Production and Utilization, Springer Science & Business Media.
- Whalen, P. J.,** 2004, U.S. Patent No. 6,685,974, Washington, DC: U.S., Patent and Trademark Office.
- Wieser, H.,** 2007, Chemistry of Gluten Proteins, *Food Microbiology*, 24(2), 115-119.
- Wild, D., Robins, G. G., Burley, V. J., and Howdle, P. D.,** 2010, Evidence of High Sugar Intake, and Low Fibre and Mineral Intake, in The Gluten-Free Diet, *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 32(4), 573-581.
- Wood, P. J.,** 2007, Cereal β -glucans in Diet and Health, *Journal of Cereal Science*, 46(3), 230-238.
- Yamamoto, L. Y., Koyama, R., Assis, A. M. D., Borges, W. F. S., Oliveira, I. R. D., and Roberto, S. R.,** 2015, Color of Berry and Juice of 'Isabel' Grape Treated with Absciscic Acid in Different Ripening Stages, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 50(12), 1160-1167.
- Yan, F., and Polk, D. B.,** 2012, *Lactobacillus rhamnosus* GG: An Updated Strategy to Use Microbial Products to Promote Health, *Functional Food Reviews*, 4(2), 77.
- Yan, Y., Zhang, F., Chai, Z., Liu, M., Battino, M., and Meng, X.,** 2019, Mixed Fermentation of Blueberry Pomace with *L. rhamnosus* GG and *L. plantarum*-1: Enhance the Active Ingredient, Antioxidant Activity and Health-Promoting Benefits, *Food and Chemical Toxicology*, 131, 110541.
- Yang, W. S., and Stockwell, B. R.,** 2016, Ferroptosis: Death by Lipid Peroxidation, *Trends in Cell Biology*, 26(3), 165-176.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Yaver, E., ve Ertaş, N.,** 2013, Yulafın Bileşimi, Hububat Endüstrisinde Kullanım Alanları ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri, *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (13).
- Yolmeh, M., and Jafari, S. M.,** 2017, Applications of Response Surface Methodology in the Food Industry Processes, *Food and Bioprocess Technology*, 10(3), 413-433.
- Yoon, K. Y., Woodams, E. E., and Hang, Y. D.,** 2006, Production of Probiotic Cabbage Juice by Lactic Acid Bacteria, *Biore Kaynak Technology*, 97(12), 1427-1430.
- Zhang, H., Önning, G., Triantafyllou, A. Ö., and Öste, R.,** 2007, Nutritional Properties of Oat-Based Beverages as Affected by Processing and Storage, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(12), 2294-2301.
- Zhang, L., Zhu, M., Shi, T., Guo, C., Huang, Y., Chen, Y., and Xie, M.,** 2016, Recovery of Dietary Fiber and Polyphenol from Grape Juice Pomace and Evaluation of Their Functional Properties and Polyphenol Compositions, *Food & Function*, 8(1), 341-351.
- Zhao, X., Zhang, Y., and Li, D.,** 2009, Elimination of Acidic or Oxidative Stress for Four Probiotics with Some Chemicals *In vitro*, *African Journal of Microbiology Research*, 3(7), 353-357
- Zhou, M., Robards, K., Glennie-Holmes, M., and Helliwell, S.,** 1999, Oat Lipids, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(2), 159-169.
- Zhu, Q. Y., Hackman, R. M., Ensunsa, J. L., Holt, R. R., and Keen, C. L.,** 2002, Antioxidative Activities of Oolong Tea, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6929-6934.
- Zhu, W., Lyu, F., Naumovski, N., Ajlouni, S., and Ranadheera, C. S.,** 2020, Functional Efficacy of Probiotic *Lactobacillus sanfranciscensis* in Apple, Orange, and Tomato Juices with Special Reference to Storage Stability and *In vitro* Gastrointestinal Survival, *Beverages*, 6(1), 13.
- Zhu, Y., Wang, Z., and Zhang, L.,** 2019, Optimization of Lactic Acid Fermentation Conditions for Fermented Tofu Whey Beverage with High-Isoflavone aglycones, *LWT-Food Science and Technology*, 111, 211-217.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

Zwer, P. K., 2004, Oats, *Encyclopedia of Grain Science*, 365-375.



TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince benden tecrübelerini ve sonsuz desteğini esirgemeyen ve her daim yoluma ışık tutarak manevi destek veren çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Gülten TİRYAKİ GÜNDÜZ'e, ve laboratuvar çalışmalarım boyunca bana yardım eden laboratuvar arkadaşlarım Özge GÜLERYÜZ ve Özge AKGÜL'e; yardımlarını esirgemeyip her soruma itina ile cevap vererek yardımcı olan bütün bölüm arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim. Bu çalışma kapsamında bana hammaddelerimden biri olan Isabella üzümünün sınırsız tedarikini sağlayan teyzem Füsün ARSLAN ve eniştem Şahin ARSLAN'a ve hayatım boyunca desteklerini her zaman hissettiğim değerli ailem ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 119O880 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir. Projenin gerçekleşmesinde gereken bursu ve maddi desteği sağlayan TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma kapsamında kullanılan liyofilize kültürlerin (*L. rhamnosus* LGG ve *L. acidophilus* La-5) tedarikini sağlayan Chr Hansen Gıda San. Ve Tic. A.Ş.'ye de teşekkür ederim.

14 / 07 / 2021

Hande Didar SÖZBİR

ÖZGEÇMİŞ

Hande Didar SÖZBİR, ilkokul eğitimini Kıbrıs'ta; ortaokul ve lise eğitimini İstanbul'da tamamladı., 2012 yılında İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya-Metalurji Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde lisans eğitime başladı ve 2017 yılında mezun oldu. Lisans eğitimini tamamladıktan sonra, 2018 yılında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitime başladı.



EKLER

EK 1 Duyusal Test Formu

Duyusal Test Formu						
Lütfen sizlere sunulan altı ürünü aşağıda belirtilen puanlama skalasını kullanarak genel tat, yabancı tat, asitlik, aroma, tekstür ve genel kabul edilebilirlik özellikleri açısından değerlendiriniz.						
Panelistin Adı Soyadı:					Tarih:	
Kalite Kriterleri	Örnek Kodu					
Tat						
Yabancı Tat						
Asitlik						
Aroma						
Kıvam						
Genel Kabul Edilebilirlik						
Yabancı Tat Tanımı veya Not						
Değerlendirme 1-9 skalası ile oluşturulmuştur. 1: Hiç beğenmedim, 2: Çok beğenmedim, 3: Beğenmedim 4: Az beğenmedim, 5: Orta derecede beğendim, 6: Az beğendim, 7: Beğendim, 8: Çok Beğendim, 9: Çok fazla beğendim						