

**“*Spirulina (Arthrospira) platensis* BİYOKÜTLESİNİN
LAKTİK ASİT FERMENTASYONU İÇİN SUBSTRAT
OLMA POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ”**

Funda MERCAN



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Spirulina (Arthrospira) platensis* BİYOKÜTLESİNİN LAKTİK ASİT
FERMENTASYONU İÇİN SUBSTRAT OLMA POTANSİYELİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Funda MERCAN
0000-0003-2785-958X

Doç. Dr. Arzu AKPINAR BAYİZİT

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2022
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Spirulina (Arthrospira) platensis BİYOKÜTLESİNİN LAKTİK ASİT FERMENTASYONU İÇİN SUBSTRAT OLMA POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Funda MERCAN

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Arzu AKPINAR BAYİZİT

Sağlıklı ve bilinçli beslenme her zaman dünya gündeminde olan konulardır. Bu konuda en çok üzerinde durulan alanlardan bir diğeri de fonksiyonel gıdalar, buna paralel olarak da probiyotik ve prebiyotiklerdir. Artan ilgiyle beraber probiyotik kültürün daha fazla miktarlarda ve daha stabil şekilde çoğaltılabilmesiyle ilgili çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalarda prebiyotik ilavesinin probiyotik organizmaların stabilitesini olumlu etkilediği üzerinde durulmaktadır. Yüksek protein içeriği (%55-65), zengin vitamin ve mineral içeriği, yüksek sindirilebilirliği gibi özellikleri ile prebiyotik olarak değerlendirilen *Spirulina ((Arthrospira) platensis* son dönemlerde oldukça ilgi görmektedir.

Bu çalışmanın amacı, *Lactobacillus acidophilus*'un gelişme ortamına farklı koşullar altında yapılan *Spirulina platensis* ilavesinin fermentasyon boyunca bakteri sayısının belirlenmesiyle prebiyotik potansiyelinin araştırılmasıdır.

Bu amaçla, farklı miktarlarda (0, 1, 0,55 ve 1 g) *Spirulina platensis* içeren, farklı koşullarda hazırlanmış besi ortamına birer mL *Lb. acidophilus* kültürü ilave edilmiş ve fermentasyon süresince gelişim durumları belirlenmiştir. Ayrıca, fermentasyonun toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite üzerine etkisi de incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, pH, renk, kuru ağırlık, optik yoğunluk, *Lb. acidophilus* sayısı, fenolik madde ve antioksidan aktivite üzerinde besiyeri bileşimi ile fermentasyon süresinin etkisi önemli bulunmuştur. En yüksek *Lb. acidophilus* sayısı ısıtılmış işlem görmüş %2 glikoz + 0,55 gr *Spirulina platensis* içeren besi ortamında gözlenirken, besiyerine glikoz ilavesinin ve artan *Spirulina platensis* konsantrasyonunun ısıtılmış işlem uygulanmasından bağımsız olarak gelişimi desteklediği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Spirulina platensis*, fermentasyon, laktik asit bakterisi, *Lb. acidophilus*
2022, ix + 85 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

EVALUATION OF SUBSTRATE POENTIAL OF *Spirulina (Arthrospira) platensis* BIOMASS FOR LACTIC ACID FERMENTATION

Funda MERCAN

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

Supervisor: Doç. Dr. Arzu AKPINAR BAYİZİT

Healthy and conscious nutrition is always on the agenda of the world. One of the most emphasized areas in this regard is the functional foods, and in parallel, probiotics and prebiotics. Due to increasing interest, studies have focused on promoting high growth of probiotic culture in a satisfactory and stable manner. The positive effect of prebiotic addition on the stability of probiotic organisms have been emphasised. *Spirulina (Arthrospira) platensis*, considered as a prebiotic having high protein (55-65%), vitamin and mineral content, and digestibility, has recently attracted noticeable value.

The aim of this study was to investigate the prebiotic potential of *S. platensis* supplementation to the growth medium of *Lactobacillus acidophilus* under different conditions by determining the bacterial count throughout fermentation.

For this purpose, 1 mL of *Lb. acidophilus* culture was added to the medium prepared under different conditions containing various amounts (0, 1, 0,55 g and 1 g) of *S. platensis*, and the growth was determined throughout fermentation. The effect of fermentation on total phenolic content and antioxidant activity was also investigated.

The impact of medium composition and fermentation time were found to be significant on the parameters of pH, color, dry weight, optical density, *Lb. acidophilus* counts, total phenolic content and antioxidant activity. The maximal *Lb. acidophilus* count was observed in a heat treatment medium containing 2% glucose + 0,55 g *Spirulina platensis*. It was determined that glucose addition to the medium and increased *Spirulina* concentration supported the growth regardless of heat treatment.

Keywords: *Spirulina platensis*, fermentation, lactic acid bacteria, *Lb. acidophilus*
2022, ix + 85 pages.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasından sonlanmasına kadar tüm süreçte bilgi ve deneyimini benimle paylaşan, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Arzu AKPINAR BAYİZİT'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez dönemim süresince bilgisini benimle paylaşan, sorduğum tüm sorulara sabırla cevap veren Sayın Dr. Öğr. Üyesi Oya Irmak CEBECİ'ye sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam içinde bulunan mikrobiyolojik analizlerde bana yol gösteren Sayın Prof. Dr. Lütfiye YILMAZ-ERSAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aşamasında yanımda olup, benim kadar emek harcayan ve yorulan çok sevgili arkadaşım ve meslektaşım Nihan GİRİTLİOĞLU'na teşekkür eder, sonsuz sevgilerimi sunarım.

Tezimin yürütülmesi aşamasında tüm laboratuvar çalışmalarım da bana yardımcı olup benimle birlikte yorulan, sevgili arkadaş ve meslektaşlarım Gizem SUNA, Şengül ÇELİK-TEKSOY, Damla ZORBAZ, Günnur GÜLKUN ve Büşra MADEN'e teşekkür eder, sevgilerimi sunarım.

Tüm hayatım boyunca yanımda olan, tüm kararlarımın arkasında durup beni destekleyen, sevgilerini üzerimden hiç eksik etmeyen aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Funda MERCAN
Gıda Mühendisi
31 / 01 / 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	v
SİMGELER DİZİNİ	vii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Fermantasyon	4
2.2. Fonksiyonel Gıdalar ve Probiyotikler	6
2.3. Laktik Asit Bakterileri (LAB).....	9
2.3.1. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	10
2.4. Algler	12
2.4.1. <i>Spirulina platensis</i>	15
2.5. Yapılan Çalışmalar.....	20
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	24
3.1. Materyal	24
3.1.1. Materyallere Uygulanan Ön İşlemler.....	24
3.1.2. Gerekli Kimyasallar	25
3.2. Yöntem.....	25
3.2.1. pH Tayini	27
3.2.2. Renk Analizi	27
3.2.3. Kuru Ağırlık Tayini	28
3.2.4. Optik Yoğunluk Tayini	29
3.2.5. <i>Lactobacillus acidophilus</i> Sayımı	29
3.2.6. Toplam Fenolik Madde Miktarının Saptanması	31
3.2.7. Antioksidan Aktivite Tayini.....	31
3.2.9. İstatistik Analiz	34
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	35
4.1. pH Değişimi	35
4.2. Renk Değişimi.....	40
4.3. Kuru Ağırlık Değişimi	42
4.4. Optik Yoğunluk Değişimi	48
4.5. <i>Lb. acidophilus</i> Sayısındaki Değişim.....	53
4.6. Antioksidan Kapasite ve Toplam Fenolik Madde Değişimi.....	58
5. SONUÇ.....	72
KAYNAKLAR	74

SİMGELER DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
%	Yüzde
C ₂ H ₇ NO ₂	Amonyum Asetat
CO ₂	Karbondioksit
CuCl ₂	Bakır(II) Klorür
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
g	Gram
G(+)	Gram pozitif
kob	Koloni oluşturan birim
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mmol	Milimol
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
Nc	Neocuproine
nm	Nanometre
°C	Celsius Derecesi
pH	Hidrojen Konsantrasyonu
ppm	Milyonda bir (parts per million)
β	Beta
μ	Mikro

KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

ATP
CUPRAC
DPPH
FAO
FDP
FRAP
GAE
GLA
HMF
LAB
MRS
ORAC
PUFA
TE
UV/VIS
WHO
EPA
DHA
HDL-C

Açıklama

Adenozin Trifosfat
Cupric Reducing Antioxidant Capacity
Radikal süpürme kapasitesi
Gıda ve Tarım Örgütü
Fruktoz Di Fosfat
Ferrik indirgeyici antioksidan gücü
Gallik asit eşdeğeri
 γ -linolenik asit
Hegzos Mono Fosfat
Laktik Asit Bakterileri
Man, Rogosa, Sharpe
Oksijen radikal tutma kapasitesi
Çoklu doymamış yağ asitleri
Troloks eşdeğeri
Ultraviyole/Görünür alan
Dünya Sağlık Örgütü
Eikozapentaenoik asit
Dokozahekzaenoik asit
High-density lipoprotein kolesterol

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. <i>Lb. acidophilus</i> 'un MRS agar üzerinde gelişimi ve mikroskop görüntüsü.....	11
Şekil 2.2. Alglerden elde edilen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri.....	13
Şekil 2.3. Çad Gölü bölgesinde Kanembou kabilesinin <i>Spirulina</i> hasadı, kurutması ve satışı.....	16
Şekil 2.4. <i>Spirulina platensis</i> ' in mikroskop görüntüleri.....	17
Şekil 3.1. Minolta CR400 renk ölçüm cihazı ve analiz edilen örnekler.....	28
Şekil 3.2. Vakum filtre düzeneğinden süzülen örnekler.....	29
Şekil 3.3. UV/VIS Spektrofotometresi (Shimadzu UV-1280) ve analiz edilen örnekler	30
Şekil 3.4. MRS agar üzerinde <i>Lb. acidophilus</i> 'un gelişimi.....	31
Şekil 3.5. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi için kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği.....	32
Şekil 3.6. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivitenin belirlenmesi için kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği.....	33
Şekil 3.7. DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitenin belirlenmesi için örnek hazırlanması.....	34
Şekil 3.8. DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitenin belirlenmesi için kullanılan troloks kalibrasyon grafiği.....	35
Şekil 4.1. İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un pH değişimine ait zon oluşumuna etkisi.....	38
Şekil 4.2. İşlem parametreleri ve saf su+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un pH değişimine ait zon oluşumuna etkisi.....	39
Şekil 4.3. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un pH değişimine ait zon oluşumuna etkisi.....	39
Şekil 4.4. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un pH değişimine ait zon oluşumuna etkisi.....	40
Şekil 4.5. İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un kuru ağırlık değişimine ait zon oluşumuna etkisi....	46
Şekil 4.6. İşlem parametreleri ve saf su+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un kuru ağırlık değişimine ait zon oluşumuna etkisi.....	46
Şekil 4.7. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un kuru ağırlık değişimine ait zon oluşumuna etkisi....	47
Şekil 4.8. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un kuru ağırlık değişimine ait zon oluşumuna etkisi.....	47
Şekil 4.9. İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un optik yoğunluk değişimine ait zon oluşumuna etkisi.....	51
Şekil 4.10. İşlem parametreleri ve saf su+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un optik yoğunluk değişimine ait zon oluşumuna etkisi.....	51

Şekil 4.11.	İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un optik yoğunluk değişimine ait zon oluşumuna etkisi.....	52
Şekil 4.12.	İşlem parametreleri ve %2 Glikoz+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un optik yoğunluk değişimine ait zon oluşumuna etkisi.....	52
Şekil 4.13.	İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> sayısındaki değişime ait zon oluşumuna etkisi.....	55
Şekil 4.14.	İşlem parametreleri ve saf su+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> sayısındaki değişime ait zon oluşumuna etkisi.....	56
Şekil 4.15.	İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> sayısındaki değişime ait zon oluşumuna etkisi.....	56
Şekil 4.16.	İşlem parametreleri ve %2 Glikoz+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> sayısındaki değişime ait zon oluşumuna etkisi.....	57
Şekil 4.17.	İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un toplam fenolik madde miktarındaki değişime ait zon oluşumuna etkisi.....	61
Şekil 4.18.	İşlem parametreleri ve saf su+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un toplam fenolik madde miktarındaki değişime ait zon oluşumuna etkisi.....	62
Şekil 4.19.	İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un toplam fenolik madde miktarındaki değişime ait zon oluşumuna etkisi.....	62
Şekil 4.20.	İşlem parametreleri ve %2 Glikoz+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un toplam fenolik madde miktarındaki değişime ait zon oluşumuna etkisi.....	63
Şekil 4.21.	İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un CUPRAC analizine ait zon oluşumuna etkisi.....	65
Şekil 4.22.	İşlem parametreleri ve saf su+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un CUPRAC analizine ait zon oluşumuna etkisi.....	65
Şekil 4.23.	İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un CUPRAC analizine ait zon oluşumuna etkisi.....	66
Şekil 4.24.	İşlem parametreleri ve %2 Glikoz+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un CUPRAC analizine ait zon oluşumuna etkisi.....	66
Şekil 4.25.	İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un DPPH analizine ait zon oluşumuna etkisi.....	68
Şekil 4.26.	İşlem parametreleri ve saf su+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un DPPH analizine ait zon oluşumuna etkisi.....	68
Şekil 4.27.	İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un DPPH analizine ait zon oluşumuna etkisi.....	69
Şekil 4.28.	İşlem parametreleri ve %2 Glikoz+ısıtılmış işlem ortamında gelişen <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un DPPH analizine ait zon oluşumuna etkisi.....	69

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Probiyotik preparatlarda kullanılan en yaygın laktik asit bakterisi türleri.....	9
Çizelge 2.2. <i>Spirulina platensis</i> 'in temel bileşikleri.....	18
Çizelge 2.3. <i>Spirulina platensis</i> 'in diğer protein kaynakları ile karşılaştırılması.	19
Çizelge 3.1. Deneme deseni faktörleri.....	25
Çizelge 3.2. Deneme deseni ve uygulanan denemeler.....	26
Çizelge 4.1. pH değişimi deney sonuçları.....	36
Çizelge 4.2. pH değişimine ait ANOVA sonuçları.....	37
Çizelge 4.3. Renk değişimi deney sonuçları.....	41
Çizelge 4.4. Kuru Ağırlık Değişimi deney sonuçları.....	43
Çizelge 4.5. Kuru ağırlık değişimine ait ANOVA sonuçları.....	45
Çizelge 4.6. Optik Yoğunluk Değişimi deney sonuçları.....	48
Çizelge 4.7. Optik yoğunluk değişimine ait ANOVA sonuçları.....	50
Çizelge 4.8. <i>Lb. Acidophilus</i> sayısındaki değişim deney sonuçları.....	53
Çizelge 4.9. <i>Lb. acidophilus</i> sayımına ait ANOVA sonuçları.....	54
Çizelge 4.10. Antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde değişimi deney sonuçları.....	59
Çizelge 4.11. Toplam fenolik madde miktarındaki değişime ait ANOVA sonuçları.....	60
Çizelge 4.12. CUPRAC analizi için ANOVA sonuçları.....	63
Çizelge 4.13. DPPH analizi için ANOVA sonuçları.....	67

1. GİRİŞ

Fonksiyonel gıdalar; vücudun temel besin öğelerine olan ihtiyacı karşılamanın ötesinde insan fizyolojisi ve metabolik fonksiyonlar üzerinde ilave faydalar sağlayan, bu sayede de hastalıklardan korunmayı ve daha sağlıklı bir yaşama ulaşmayı sağlayan gıda ve gıda bileşenleridir. Günümüzde fonksiyonel gıdalara olan ilgi ve ihtiyacın artmasına paralel olarak probiyotik bakteriler ve kullanım alanları da gündeme gelmiştir. Probiyotik içeren gıda ürünleri fonksiyonel besin olarak sınıflandırılabilir ve prebiyotiklerle birlikte Avrupa, Japonya ve Avustralya'daki fonksiyonel gıda pazarının en büyük bölümünü temsil ederler. Artan ilgiyle beraber probiyotik kültürün daha fazla miktarlarda ve daha stabil şekilde çoğaltılabilmesiyle ilgili çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (Vasiljevic ve Shah 2008, Mocanu, Botez, Viorela Nistor, Andronoiu ve Vlăsceanu, 2013.).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, probiyotik organizmaların iddia edilen sağlık faydalarını elde etmek için canlılıklarının korunması rolünü üstlenen prebiyotiklerin, yani fermente edilebilir karbonhidratların, ucuz, doğal, sürdürülebilir ve çeşitli biyoaktif bileşikler açısından da zengin olan tatlı-su ve tuzlu-su ekosisteminden karşılanması üzerinde yoğunlaşmıştır (Bhowmik vd. 2009, Kavimandan 2015, Gupta vd. 2017, Andrade vd. 2018, Çelekli vd. 2019, Niccolai vd. 2020, Torun ve Konuklugil 2021, Cai vd. 2022).

Siyanobakteriler, diğer isimlendirme ile mavi-yeşil algler, sucul ya da yarı-sucul habitatlarda (tuzlu, tatlı ve atık sularda) geniş yayılım gösterebilen, basit yapılı fotosentetik organizmalardır. Doğada biyolojik aktivitesi en yüksek kaynaklardan biri olarak görülen alglerin yapılarında çok sayıda biyoaktif bileşen bulunmaktadır. Bunlar protein, kül, karbonhidratlar, lipitler, nükleik asitler, vitaminler, pigmentler ve biyoaktif peptitler olarak belirtilmektedir (Beheshtipour vd. 2013, Alajil Alslibi 2019). Algler, makro algler ve mikro algler olarak sınıflandırılabilir.

Fotosentetik siyanobakteri grubunda yer alan mikroalgler; güneş enerjisi, CO₂ ve besin maddelerinin verimli kullanılmasıyla karbonhidratları, proteinleri, lipitleri ve diğer değerli organik maddeleri sentezleyebilen ökaryotik organizmalardır (Batista vd. 2013, Matos vd. 2016). Mikroalg biyokütleleri genellikle %3-7 nem, %53-63 protein, %4-6 lipit, %17-25 karbonhidrat, %8-13 kül, %8-10 lif, %1-1,5 klorofil ve çeşitli vitaminlerden oluşmaktadır (Varga 2012, De Morais vd. 2015, Ünver Alçay vd. 2017, Villarruel-López

Ascencino ve Nuño, 2017, Ambati ve Gokare 2018, Nethravathy vd. 2019). Alglerden elde edilen yüksek değerli bileşikler; çoklu doymamış yağ asitleri, polisakkaritler, protein, pigment, steroller, vitaminler gibi bileşiklerdir. Bu biyoaktif bileşikler antioksidan, antitümör, antikoagulan, antiinflamatuvar, anti-viral gibi bağışıklık düzenleyici etkiler göstermekte ve diyabet, oksidatif stres, iltihaplanma ve yüksek kolesterolü engellemektedir (Akyıl vd. 2016, Singh vd. 2017, Barkia vd. 2019, Sathasivam vd. 2019). Bu nedenle, mikroalgal biyokütle ya da metabolitleri gıda, yem ve sağlık ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

Mikroalgler, bitki bazlı protein kaynakları olarak tanımlanmaktadır (Barka ve Blecker 2016, Caporgno ve Mathys 2018, Amorim vd. 2020, Wang vd. 2021a). Mikroalg türleri arasında, mavi-yeşil bir alg (siyanobakter) olan *Spirulina (Arthrospira)* gıda olarak uzun bir kullanım geçmişine sahiptir. Aztek uygarlığı döneminde bile kullanıldığı bildirilmektedir. Bununla birlikte, NASA tarafından uzay görevlerinde yüksek protein içeriğinden dolayı astronotlar için besin takviyesi olarak başarıyla kullanılmasından sonra daha da ünlenmiştir. Ham protein içeriği %60 civarında olan *Spirulina*'nın bilinen 20 aminoasidin onsekiz adedini, süttten daha fazla kalsiyum, inek karaciğerinden daha fazla B₁₂ vitamini, A, B₂, B₆, E, H ve K vitaminleri ile tüm gerekli mineralleri içermektedir (Belay vd. 1993, De Oliveira vd. 1999, Beheshtipour vd. 2013, Alam vd. 2019, Magro vd. 2018, Michael vd. 2019). Bu bileşenleri nedeniyle, *Spirulina* biyokütlesi bağışıklık fonksiyonlarını modüle etme yeteneğine sahip olduğu ve mast hücreleri tarafından histamin salınımını engelleyerek anti-inflamatuvar özellik gösterdiği bildirilmiştir (Karkos vd. 2011).

Spirulina platensis; yüksek protein (%55-65), %13,6 karbonhidrat (glukoz, ramnoz, mannoz, ksiloz ve galaktoz gibi) ve zengin vitamin-mineral içeriği, elzem aminoasitleri (lisin, valin, izolisin) bulundurması, yüksek sindirilebilirlik gibi özellikleri dolayısıyla prebiyotik olarak değerlendirilen alternatif gıda maddelerindedir (Şahin Cebeci 2015, Gupta vd. 2017). *Spirulina platensis* biyokütlesinin probiyotik ürünlerde bakteri gelişmesini uyardığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, *Spirulina platensis* alginin büyüme ortamından azotu kullanarak tükettiği ve Lactobacilli ile diğer laktik asit üreten suşların gelişmesini uyanan hücre dışı karbonhidratları ve diğer büyüme maddelerini

saldığı gözlenmiştir (Bhowmik vd. 2009, Kordowska-Wiater vd. 2011, Mocanu vd. 2013, Niccolai vd. 2019, 2020, Yu vd. 2020).

Yapılan bu çalışmada *Lactobacillus acidophilus* 'un gelişim ortamına farklı koşullarda toz haldeki *Spirulina platensis* (*Arthrospira*) eklenerek mikroalgin LAB gelişimine etkisi incelenecektir. *Spirulina platensis* ile yapılan çalışmalar ağırlıklı olarak fonksiyonel gıda üretimi ve gıdalardaki besin değerinin artırılması üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak fonksiyonel ürünlerin temelinde yer alan probiyotikler düşünüldüğünde, probiyotik bakterilerin gelişimi ve istenilen metabolitleri üretmeleri için mevcut prebiyotiklere ilave olarak alternatif, kolay bulunabilir ve ucuz kaynaklara da ihtiyaç olduğu görülmektedir. Bu nedenle çalışmanın temel amacı, *Spirulina platensis* biyokütlesinin *Lactobacillus acidophilus*'un gelişiminde prebiyotik substrat olarak kullanılmasının bakteri gelişimi üzerine etkilerini belirlemektir. Gelişim süreci boyunca (0., 8., 48. ve 72. saatler) pH kontrolleri ile birlikte biyoaktif bileşen, antioksidan aktivite ve mikrobiyal canlılık analizleri gerçekleştirilecektir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Fermantasyon

Gıda üretimi ve muhafazasında bilinen ve kullanılan en eski yöntemlerden biri olan fermantasyon kelimesine, geçen yüzyıl içinde birçok anlam tanımlanmıştır. En genel anlamı, hafif bir köpürme ya da kaynama durumudur. Terimin ilk kullanıldığı reaksiyon, karbondioksit üretimine bağlı köpük oluşumunun izlendiği şarap üretimi olmuştur. Gay-Lussac sürecin kimyasal yönlerini inceledikten sonra terimin anlamı şekerlerin etanol ve karbon dioksit'e parçalanması olarak değiştirilmiştir. Bununla birlikte, Pasteur 1857 yılında mikroorganizmaları fermentasyonla ilişkilendirerek kimyasal mikrobiyolojinin doğmasına neden olmuştur. Mikroorganizma olarak "hücre" ve "maya" terimlerinin birbirinin yerine kullandığı için "fermantasyon"un hücre, organizma, gaz oluşumu ve organik yan ürünlerin üretimi ile ilişkili olduğu, burada ana görevin zımaz enzimi aracılığı yürütüldüğü ve bu bilim dalının "zimoloji" olarak anılması fikrini öne sürmüştür. Bu gelişmelerle birlikte fermantasyonun ilerleyişi ile bakteri, maya ve küflerin fermantasyondaki rolleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Gaz oluşumu ve tüm hücrelerin fermantasyonda görev alması fikri, laktik asit üretimi gibi bazı fermentasyonlarda gaz serbest kalmadığı keşfedildiğinde, fermantasyon için yapılan bu tanımlama geçersiz olmuştur. Ayrıca, tüm hücrenin gerekli olmadığını gösteren ve hücre içermeyen ekstraktlarla da fermantasyon süreçlerinin gözlenmesinin yanı sıra asetik asit fermantasyonu olarak adlandırılan sirke üretiminin aerobik bir süreç olduğunun belirlenmesiyle daha da karmaşık hale gelen fermantasyon tanımının yeniden değerlendirmesi gerekmiştir. Bu doğrultuda fermentasyonun, oksijenin olmadığı koşullarda hücrelerin enzim sistemleri tarafından daha fazla metabolize edilemeyen organik bileşiklerin organik ürünlere anaerobik dönüşümü olduğu düşüncesi gündeme gelmiştir.

Fermentasyon sürecinin anaerobik bir süreç olduğunun kabul edilmesiyle birlikte, mikroorganizmaların ve memeli dokularının biyokimyası arasındaki paralellikler de değerlendirilmiştir. Glikoz metabolizmasının ara ürünlerinin mikroorganizmalarda ve memeli dokularında aynı olduğunun saptanmasıyla birlikte, tüm fermantasyon süreçlerinin benzer yolları izlediği varsayılmıştır. Sonuç olarak, karbonhidratların mikrobiyal fermentasyonunun memeli glikolizine benzer olduğu düşünülmüştür.

Karbonhidratların mikroorganizmalar tarafından anaerobik parçalanmasının bir yöntemini tanımlamak için "glikoliz" ya da "glikolitik yol" terimleri kullanılmış ve "fermantasyon"un "glikoliz" ile eş anlamlı olarak değerlendirilmesi önerilmiştir.

Bu gelişmeler ve öneriler ışığında en genel tanımlamayla fermentasyon, enzimlerin etkisiyle organik substratlarda kimyasal değişikliklere neden olan kimyasal enerjinin üretildiği metabolik bir süreçtir. Biyokimyasal olarak fermentasyon, oksijenin yokluğunda karbonhidrat ve ilgili bileşiklerin bir elektron alıcısı olmadığında kısmen okside edilerek enerjinin, ATP şeklinde, serbest bırakılması olarak tanımlanmaktadır. Gıda teknolojisinde ise, fermentasyon mikroorganizmaların aktivitesinin bir gıda maddesi ya da içecekte tat, koku, tekstür ve raf ömrünün geliştirilmesi gibi arzu edilen bir değişiklik meydana getirdiği bir süreci ifade etmektedir (Yücel Şengün 2011, Karaçıl ve Acar Tek 2013, Katz 2012, Mansi vd. 2012, Stanbury vd. 2016, Liu vd. 2017, Kuila ve Sharma 2018, Berenjian 2019, Some ve Mandal 2020, Faniyi ve Oyattokun 2021). Hücrelerin enzim içerikleri ve çevresel koşullara bağlı olarak mikroorganizmaların faaliyetlerinin değişmesi nedeniyle fermentasyon ürünlerinin farklılık göstermesi ve sentezlenen bu ürünlerin ekonomik değerinin olması da endüstriyel mikrobiyolojinin gelişmesine yol açmıştır.

Mikroorganizmanın kullanımına göre iki tip fermentasyon olduğu belirtilmektedir. Bunlar; doğal fermentasyon (spontan / başlatıcı bir kültür eklenmeden kendi kendine doğal olarak fermente olabilen) ile kontrollü fermentasyon (starter ilaveli / başlatıcı kültür kullanılarak yapılan) olarak ifade edilmektedir (Portugal vd. 2016, Capozzi vd. 2017, Steinkraus 2017).

Fermentasyon mekanizmasının çözülmesiyle, artan nüfusun gıda ihtiyaçlarına yönelik fermente gıdaların üretimi ilgi çekici hale gelmiştir. Gıdaların fermentasyonu ile ürünlerin muhafaza sürelerinin artırılması, daha güvenli ürün elde edilmesi, çığ gıdalarda istenmeyen bozucu faktörlerin engellenmesi, ürünlerin besin değerlerinin artırılması ve sindiriminin kolaylaştırılması gerçekleştirilmiştir. Biyoteknolojinin gelişmesi ile birlikte fermentasyon tekniğiyle organik ve biyokimyasal maddelerin üretimi de gündeme gelmiştir. Gıda, ilaç, tekstil, kimya, kozmetik gibi birçok endüstride kullanılan organik

asitler (sitrik asit, laktik asit, fumarik asit gibi) fermantasyon yoluyla üretilebilmektedir (Omay ve Güvenilir 2011, Nip 2017).

2.2. Fonksiyonel Gıdalar ve Probiyotikler

Günümüzde bazı gıdaların doğal yollarla hastalıkların tedavisinde faydalı olduğunun bilimsel olarak kanıtlanmasıyla birlikte beslenme ve sağlık arasındaki ilişkinin ne kadar önemli olduğu tekrar fark edilmiştir. Yeni yaşam tarzları, gelirlerin artması, değişen ihtiyaçlar ile beslenme ve sağlık konularında tüketicilerin daha bilinçli olması besin değeri yüksek ve sağlık açısından olumlu etkileri bulunan gıdalara olan ilginin artmasına neden olmuştur. Bu besinler “fonksiyonel gıdalar” olarak adlandırılmaktadır (Istva vd. 2008, Bigliardi ve Galati 2013, Miano 2016, Konstantinidi ve Koutelidakis 2019, Guiné vd. 2020). Günlük diyetin bir parçası olan fonksiyonel gıda ve içeceklerin küresel pazarının 2021 yılında 192 milyar dolar değerinde olduğu belirtilmektedir.

Fonksiyonel gıda terimi ilk olarak 1980'lerde Japonya Sağlık ve Refah Bakanlığı'nın olası sağlık yararları olan gıdalar için bir düzenleyici sistem oluşturması ile ortaya çıkmıştır. Bu kapsamda, bir gıda maddesi temel beslenme etkilerinin yanı sıra insan organizmasına yönelik hedef işlevler, sağlığı geliştirme ve/veya kronik hastalıkların gözlenmesinin azaltılması gibi, üzerinde olumlu etkilere sahipse “fonksiyonel” olarak kabul edilebilir. Fonksiyonel gıdalar genellikle “doğal sağlık ürünleri” ya da “sağlıklı gıdalar” olarak ifade edilmektedir (Kwak vd. 2001, Kaur ve Das 2011, Guangchang vd. 2012, Martirosyan ve Singh 2015, Gur vd. 2018).

Gıda maddesinin fonksiyonel olarak nitelendirilebilmesi biyoaktif bileşikler, probiyotik mikroorganizmalar ve prebiyotik maddeler gibi içeriklere sahip olması ve bunların etki göstermesi için vücudun gerekli bölgelerine yeterli miktarda ulaşabilmeleri ile mümkündür. Fonksiyonel gıdalar, kalp-damar hastalıkları, kanser, yüksek tansiyon, kolesterol, ishal ve şeker hastalığı gibi hastalıkların oluşma riskini azaltmaktadır (Bigliardi ve Galati 2013, Malla vd. 2014, Granado-Lorencio ve Hernández-Alvarez 2016, Gülbandılar vd. 2017, Butnariu ve Sarac 2019, Alongi ve Anese 2021, Gupta ve Mishra 2021). Bununla birlikte, fonksiyonel gıdalara atfedilen olası hastalıkları

önleme/azaltma etkisine ilişkin beslenme ve sağlık iddiaları, yalnızca yeterli bilimsel veriler sağladığı takdirde belirli durumlar için geçerli olmaktadır.

Fonksiyonel gıda bileşeni olan probiyotik mikroorganizma teriminin temel kelime anlamı Yunanca'da "yaşam için - pro bios" demektir. İlk kez 1954 yılında bağırsak mikrobiyotasındaki antibiyotikler ve diğer antibakteriyel ajanlar ile karşılaştırılarak bazı yararlı bakterilerin faydalı etkileri olarak ifade edilmekle birlikte, 2013 yılında Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği (ISAPP) tarafından "*yeterli miktarlarda uygulandığında konakta bir sağlık yararı sağlayan seçilmiş mikroorganizmaların canlı suşları*" olarak tanımlanmışlardır. Konakçı sağlığı ve fonksiyonellik için bir üründeki canlı probiyotik hücre sayısının, kullanılan suşa bağlı olarak, son kullanma tarihinde en az 10^6 CFU/mL ya da CFU/g olması gerekmektedir. Bunun temel nedeni, minimum günlük etkili doz olan 10^8 - 10^9 hücre sayısının pH, titre edilebilir asitlik, moleküler oksijen varlığı, redoks potansiyeli, hidrojen peroksit varlığı, aroma maddeleri, paketleme malzemeleri ve paketleme koşulları gibi birçok faktöre bağlı olarak üretim ve raf ömrü boyunca azalmasıdır. Probiyotik organizmaların gıda içindeki stabilitesi ve canlılığını korumasını iyileştirmek üzerine yapılan çalışmalar, probiyotiklere alternatif ya da onlara destek olarak kullanılan prebiyotikleri gündeme getirmiştir. Prebiyotiklerin, yani "*kolondaki bir ya da sınırlı sayıda probiyotik bakterinin gelişmesini veya aktivitesini seçici olarak uyararak konakçıda bir sağlık yararı sağlayan sindirilmeyen ya da sindirilebilirliği düşük gıda bileşenleri*"nin, bağırsak mikrobiyotasının regülasyonunda önemli bir yeri olduğu görülmektedir (Yılmaz 2004, Minelli ve Benini 2008, FAO/WHO 2007, ISAPP 2013, Hill vd. 2014, Pandey vd. 2015, Vandenplas vd. 2015, Shi vd. 2016, Markowiak ve Śliżewska 2017, Güler-Akın vd. 2018, Kerry vd. 2018).

Probiyotik bakterilerin gıdalarla alınan toksik maddelerin vücuttan atılması, bağırsaklardaki zararlı bakterileri kontrol altına alıp, bağışıklık sistemini güçlendirerek direncinin artması, antibiyotik kullanımı nedeniyle doğal florası bozulan bağırsakların dengesinin düzenlenmesi, kalsiyumun bağırsaklardan emilimini artırıp kemik erimesinin (osteoporoz) önlenmesi, zararlı bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların yavaşlatılması, B grubu ve K vitamini üretim ve emiliminin iyileştirilmesi, proteolitik, lipolitik ve β -galaktosidaz aktivitesinin artırılması ile farklı besin maddelerinin özümleme,

sindirilebilirliğinin gelişiminin sağlanması, obezite, kanser, alerjik hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi gibi pek çok sağlık yararı bulunmaktadır (Bhowmik vd. 2009, Yılmaz Aksu vd. 2010, Nagpal vd. 2012, Dănuş Mocanu vd. 2013, Alajil Alslibi 2019, Bharti vd. 2020). Bununla birlikte, probiyotik mikroorganizmalar beklenen bu olumlu sağlık etkilerini ancak bağırsak sisteminde yeterli miktarda ve canlı olarak buldukları takdirde gösterebilmektedir (Parvez vd. 2006, Mocanu ve Botez 2012, Gülbandılar vd. 2017).

Fonksiyonel gıda endüstrisinde yararlanılan probiyotik bakterilerin en önemli grubunu laktik asit bakterileri (LAB) (özellikle *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp.) oluşturmaktadır. Bu bakterilerin dışında *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus acidilactici*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus thermophilus*, *Propionibacterium freudenreichii* ve *Escherichia coli* strain nissle gibi bazı bakteriler ile *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces boulardii* gibi mayalarda probiyotik mikroorganizma olarak değerlendirilmektedir (Çizelge 2.1.) (Mortazavian vd. 2006, Uymaz 2010, Hatoum vd. 2012, Iranmanesh vd. 2014, Amutha and Kokila 2015, Syngai vd. 2016, Çelekli vd. 2019, Binda vd. 2020, Alp ve Ertürkmen 2017, EFSA 2018, Zielińska vd. 2018).

Probiyotik bakterileri ve spesifik suşları tanımlamak için taşımaları gereken ortak kriterler aşağıda belirtildiği gibidir (FAO/WHO 2002, Kailasapathy ve Chin 2000, Fijan 2014, Khalighi vd. 2016):

- İnsan kaynaklı cinsler olmalı
- Safra, asit, enzim ve oksijene karşı kararlı olmalı
- Bağırsak mukozasına yapışabilme özelliği göstermeli
- İnsan gastrointestinal sisteminde kolonizasyon potansiyeli bulunmalı
- Antimikrobiyal madde üretme yeteneđinde olmalı
- Etkisi kanıtlanabilir olmalı
- Güvenilir özellikte olmalı

Çizelge 2.1. Probiyotik preparatlarda kullanılan en yaygın laktik asit bakterisi türleri

<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Bifidobacterium sp.</i>	<i>Enterococcus sp.</i>	<i>Streptococcus sp.</i>
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>S. cremoris</i>
<i>Lb. casei</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Ent. faecium</i>	<i>S. salivarius</i>
<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	<i>B. animalis</i>		<i>S. diacetylactis</i>
<i>Lb. cellobiosus</i>	<i>B. infantis</i>		<i>S. intermedius</i>
<i>Lb. curvatus</i>	<i>B. thermophilum</i>		
<i>Lb. fermentum</i>	<i>B. longum</i>		
<i>Lb. lactis</i>			
<i>Lb. plantarum</i>			
<i>Lb. reuteri</i>			
<i>Lb. brevis</i>			

2.3. Laktik Asit Bakterileri (LAB)

Laktik asit bakterileri genel bir tanımla; metabolizmaları sırasında laktozu parçalayarak başlıca laktik asit oluşturan mikroorganizmalardır. İlk olarak 19. yüzyılda sütte fermantasyona neden olan bakteriler laktik asit bakterileri olarak adlandırılmış ve daha sonra bu grup *Lactobacillaceae* familyası içinde sınıflandırılmıştır. LAB; gram pozitif, spor oluşturmeyen (*Sporolactobacillus inulinus* dışında), katalaz negatif, aerotolerant (mikroaerofilik koşullardan anaerobik koşullara kadar geniş bir aralıkta gelişebilen), karbonhidrat metabolizmaları sonucunda başlıca son ürün olarak laktik asit oluşturan mikroorganizmalardır. LAB iki ayrı familyada gruplandırılmıştır. *Streptococcaceae* familyasına ait *Streptococcus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus* türleri bulunurken, *Lactobacillaceae* familyasında *Lactobacillus* türleri bulunmaktadır. LAB fermantasyonda oluşan son ürünlerin tür ve miktarına göre de sınıflandırılabilirler. Homofermentatif LAB glukozu, FDP yolu ile parçalamakta ve fermantasyon sonunda %95-100 oranında laktik asit sentezlemektedirler. Bununla birlikte az miktarda ortamın özelliğine göre, formik asit, asetik asit ve etanol de oluşturabilirler. Heterofermentatif LAB ise, glukozu HMF yolu ile parçalamakta ve fermantasyon sonunda %50 laktik asit sentezlemekle birlikte yüksek oranda etanol, asetik asit, gliserol, mannitol ve fruktoz oluşturmaktadırlar. Su ve toprakta neredeyse hiç görülmeyen bu bakterilere, cins ve türe göre değişmekle birlikte süt ve süt ürünleri çalışma alanlarında, bitki ve atıklarında, insan ve hayvanların bağırsak sistemlerinde rastlanabilir (Stiles ve Holzapfel 1997, Çon ve Gökcalp 2000, Axelsson 2004, König ve Fröhlich 2009, Ishikawa 2012, Oguntoyinbo ve

Narbad 2012, Hayek ve Ibrahim 2013, Holzapfel ve Wood 2014, Alvarez-Sieiro vd. 2016, Sánchez vd. 2019, Zheng vd. 2020, Wang vd. 2021b).

Gıda fermantasyonlarında rol alan çeşitli mikroorganizmalar içerisinde laktik asit bakterileri önemli yer tutmaktadır. LAB'leri fermente süt, sebze, et ve hububat ürünleri gibi farklı gıdaların üretilmelerinde kullanılmaktadır. Son yıllarda özellikle yoğurt gibi fermente süt ürünlerine *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei*, *Lb. reuteri* eklenmesi konusuna ilgi artmıştır. Tüketimden sonra, bu probiyotik kültürlerin bağırsak sisteminde *Helicobacter pylori*, *Salmonella typhi* ve *Yersinia enterocolitica* gibi bazı patojenik mikroorganizmalara karşı önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır (Saad vd. 2001, Güldaş ve İrkin 2010, Cizekiene vd. 2013, Fadaei vd. 2013, Nasr vd. 2017, Hu vd. 2021).

Laktik asit fermantasyonu ile ürün üretiminde laktik asit bakterileri, ortamda bulunan karbonhidrat substratını kullanarak laktik asit üretmektedirler. Laktik asit ile birlikte bazı antimikrobiyal etkili maddeleri de sentezleme yetenekleri ürünün güvenilirliğine katkı sağlamaktadır. Son yıllarda LAB'nin gıdalarda kullanımı, üretmiş oldukları bu antimikrobiyal maddeler sebebi ile mikrobiyal bulaşmaların engellenmesinde alternatif bir yol olarak kabul edilmektedir. Laktik asit bakterilerinin sentezlediği laktik asit ile düşük konsantrasyonlarda da olsa formik, propiyonik, asetik gibi organik asitlerin patojen mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyal etkisinin olduğu bilinmektedir. Laktik asit bakterilerinin inhibitör etkisi özellikle asidik ortamlarda oluşmaktadır. Ayrıca kullanılan starter kültür miktarı ve aktivitesi de patojen mikroorganizmaların gelişimini engellemektedir (Leroy ve De Vuyst 2004, Yücel Şengün 2011, Al Kassaa vd. 2014, Ahlberg vd. 2015, Mokoena 2017, Vieco-Saiz vd. 2019, Mokoena vd. 2021, Yap vd. 2021). Yüksekdağ ve Beyatlı (2003) *Lactobacillus*'ların inhibisyon etkisi *Streptococcus*'lara göre daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

2.3.1. *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus, 37-42°C aralığında en iyi gelişme gösteren, ancak 45°C'ye kadar da gelişebilen kısa (2-10 µm), G(+), homofermentatif, mikroaerofilik bir laktik asit bakterisidir. Optimum pH aralığı 5,5-6,0; yani hafif asidik ortamlardır. Bununla birlikte,

pH 4.0'ün altında inhibe olmaktadır (Bull vd. 2013). İlk olarak bebek dışkılarından izole edilen *Lb. acidophilus*'un metabolik, taksonomik ve fonksiyonel özelliklerinin tanımlanması zaman içinde birçok değişim göstermiştir. Bununla birlikte, *Lb. acidophilus* gastrointestinal sistemin mikrobiyotası üzerinde olumlu etkileri olan bir *Lactobacillus* türü olarak bilinmektedir (Altermann vd. 2004, Selle vd. 2014).



Şekil 2.1. MRS agar üzerinde *Lb. acidophilus*'un gelişimi

L.acidophilus'un taksonomisi aşağıda belirtimiştir (Gopal 2011);

ŞUBE : *Fermicutes*

SINIF : *Bacilli*

TAKIM : *Lactobacillales*

AİLE : *Lactobacillaceae*

CİNS : *Lactobacillus*

TÜR : *Lactobacillus acidophilus*

L. acidophilus'un ana sağlık yararları;

- Bağırsak enfeksiyonlarına karşı bağışıklığın artırılması,
- Bağışıklık güçlendirme,
- İshal hastalıklarının önlenmesi,
- Kolon kanserinin önlenmesi,
- Hiperkolesteroleminin önlenmesi,
- Laktoz kullanımında iyileşme,
- Üst gastrointestinal sistem hastalıklarının önlenmesi,
- Bağırsak mukozal bariyerinin stabilizasyonu (Kailasapathy ve Chin 2000) şeklinde belirtilebilmektedir.

2.4. Algler

Latince “deniz otu” anlamına gelen algler, su ortamında primer üretici canlılardır. Birçok sucul canlıya besin kaynağı oluşturmakla birlikte, taşıdıkları pigmentler sayesinde fotosentez yaparak karbondioksidi karbonhidratlara çevirme yeteneğine sahiptirler. Bu özellikleri ile tüm dünyada ihtiyaç duyulan fotosentetik karbon ihtiyacının üçte ikisini üretmeleri ve tüm ekosistemin bütünlüğünün korunması açısından oldukça önemlidirler. Ekolojik olarak algler yeryüzünün her yerinde yaşamlarını sürdürebilirler. Ancak %70'nin asıl yaşam alanı sulardır. Çok soğuk buzullarda yaşayabildikleri gibi, 70°C ya da daha yüksek sıcaklıktaki kaynak sularında dahi aktivite gösterebilmektedirler (Şahin Cebeci 2015).

Algler basit yapıları, klorofil içeren organizmalardır. Boyutları 3-10 µ'dan 70 cm uzunluğa kadar çıkabilmektedir. Yapısal olarak ökaryotik (gelişmiş) ve prokaryotik (basit yapıları) olmak üzere iki büyük gruba ayrılırlar. Algler, bir prokaryotik bölüm *Cyanophyta* (mavi-yeşil algler) ve 8 ökaryotik bölüm (*Rhodophyta* (kırmızı algler), *Phaeophyta* (kahverengi algler), *Chlorophyta* (yeşil algler), *Pyrrophyta* (ateş rengi algler), *Chrysophyta* (altın sarısı algler), *Bacillariophyta* (diatomlar), *Xanthophyta* (sarı-yeşil algler), *Euglenophyta* (kamçılı algler)) olarak ifade edilebilmektedir. Boyutlarına göre makroalg veya mikroalg olarak sınıflandırılmaktadırlar.

Alglerden elde edilen önemli bileşikler; çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), polisakkaritler, protein, pigment, sterol, vitamin ve diğer bileşiklerdir. Elde edilen bu bileşikler antioksidan, antitümör, antikoagülan, antiinflamatuvar, anti-viral gibi bağışıklık düzenleyici bileşenler içermektedirler. (Şekil 2.2.) Bu özelliklerinden dolayı diyabet, oksidasyon, iltihaplanma ve yüksek kolesterolün önüne geçtiği bildirilmektedir (Akyıl 2016). Algler; hayvan yemi, gübre, doğal gıda boyası, gıda katkı maddesi, atık su arıtma, kozmetik sanayii gibi farklı alanlarda kullanılabilirler (Güneş 2009, Ünver Alçay vd. 2017). Algler en fazla tıp, eczacılık ve kozmetik, gıda, tarım ve endüstri alanlarında kullanılmaktadır. Toprağın az, nüfusun fazla olduğu Uzakdoğu ülkelerinde alglerin 17.yy'dan beri önemli gıda kaynağı olarak görüldüğü bilinmektedir (Aktar ve Cebe 2010, Şahin Cebeci 2015, Arslan 2018).



Şekil 2.2. Alglerden elde edilen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri

Mikroalglerin üretimi ve bunlara olan ilgi, kullanım alanları ile birlikte her geçen gün daha da artmaktadır:

- İçerdikleri yüksek miktarda protein, esansiyel bileşikler (vitaminler, amino asitler ve yağ asitleri) ve biyoaktif bileşikler sebebi ile insan ve hayvan beslenmesinde kullanılmaktadırlar.
- Canlı ya da ölü mikroalgler, larva ve genç dönemdeki balıkların ve ticari olarak önemli yumuşakçaların beslenmesinde kullanılmaktadır.
- Kümes hayvanlar, domuzlar, ruminantlar ve böceklerin beslenmesinde yem katkı maddesi olarak kullanılmaktadır.
- Tarımda azot tutucu özelliği sebebiyle gübre olarak, özellikle de azot tutan siyanobakteriler pirinç tarımı yapılan bölgelerde, kullanılmaktadır.
- Toprak iyileştiricisi olarak ise, erozyonu azaltmak, toprağı havalandırmayı sağlamak, su hareketini kolaylaştırmak, toprağın sürülmesini kolaylaştırmak ve bitki gelişmesini düzenlemek gibi şekillerde kullanılmaktadır.
- Kozmetik sanayisinde, losyonlar, cilt temizleme maddeleri, cilt kremleri, saç spreyi ve boyalarının üretiminde kullanılmaktadır.

- Antibiyotik, pigment üretiminde kullanılmaktadır. Antibiyotik aktiviteden sorumlu bileşikler daha çok makroalglerde bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri; halojenlenmiş bileşikler, alkoller, aldehitler, terpenoitler, hidrokinonlar ve ketonlardır.
- Suların arıtılmasında, atıkların temizlenme prosesleri oksijenli bir ortamda gerçekleşmektedir ve bu oksijenlendirme bazı algler tarafından sağlanabilmektedir.
- Yenilenebilir biyoyakıt üretiminde kullanılmaktadır.
- Algal biyokütlenin anaerobik parçalanmasıyla metan üretiminde kullanılmaktadır.
- Mikroalgal yağlardan biyodizel elde edilmesinde kullanılmaktadır.
- Alglerin eczacılık alanında; yaralanmalarda, ağır metal zehirlenmelerinde, bağışıklık sisteminin dengelenmesinde, yüksek ateşi düşürmede, kan dolaşımının düzenlenmesinde, deri yenilenmesinde, damar tıkanıklıklarının giderilmesinde ve kolesterolü düşürmede kullanıldığı bilinmektedir.

Yapılarında bulunan klorofil yardımıyla fotosentez yapabilen, boyutları birkaç mikron ile birkaç yüz mikron arasında değişen basit yapıları bitkisel özellikteki mikroorganizmalara, mikro alg denilmektedir (Arslan 2018). Siyanobakteriler (mikro algler, mavi-yeşil algler), doğada büyük ölçüde yayılmış bulunan fotoototrofik mikroorganizmalardır. Tatlı ve tuzlu suların üst yüzeylerinde, karada ise ışın ve nemin bol olduğu yerlerde ayrıca bazı canlı organizmaların üzerlerinde bulunabilirler (Yılmaz ve Duru 2011, Parada vd. 1998).

Siyanobakterilerin günümüzden 3,5 milyar yıl önce evrimleştiğine ve su kullanarak atmosferdeki karbondioksidi organik karbon bileşiklerine dönüştürebilen ilk bakteri grubu olduğuna inanılmaktadır ve ilk varlıkları fosiller ile belirlenmiştir (Henrikson 2010, Yılmaz ve Duru 2011, Sotiroudis 2013). Siyanobakteriler insanlar ve hayvanlar için protein, karbonhidrat, lipit, vitamin, enzim ve diğer biyoaktif bileşikler açısından oldukça önemli görülmektedir. 1970'li yıllardan başlayan araştırmaların sonunda bu alg grubunun antineoplastik, antimikrobiyal ve antiviral aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Şahin Cebeci 2015).

2.4.1. *Spirulina platensis*

Nüfus artışı, besin kaynaklarının tükenmesi ve dengeli beslenme, yeni besin kaynaklarının kullanılmasını gerektirmektedir. Uzun yıllardır, sağlığı ve bağışıklığı iyileştirmek ve hastalıklarla mücadele etmek için antibiyotikler, hormonlar ya da ilaçlar kullanılmaktadır. Organizmanın kullanılan antibiyotiklere karşı gösterdiği direnç hem insanlarda hem de hayvanlarda doğal katkı/destek maddelerinin kullanılmasının daha etkin bir alternatif olduğunu gündeme getirmiştir. Doğal katkı maddeleri olan protein takviyeleri çoğunlukla bitki türevleri ile özlerinden oluşmakta ve antibiyotik, hormon ile ilaç kullanımının yerini her gün biraz daha fazla almaktadır. Bu takviyelerin besleyicilik değerleri de tercih edilmelerinin önemli bir nedenidir. Bu katkı maddeleri arasında yer alan mikroalgler arasında *Spirulina (Arthrospira)* zengin besin değeri, sağlık üzerine olumlu etkileri, farmakolojik değeri ve biyokütlenin toksik bileşen içermemesi gibi özellikleri dikkate alındığında üzerinde çalışmaların yoğunlaştığı bir alg türüdür.

Eski zamanlarda Meksikalılar (Aztekler) bu mikroorganizmayı insan gıdası olarak kullanırken, günümüzde özellikle Çad Gölü bölgesinde yaşayan Afrikalı Kanembou kabilesinde olduğu gibi geleneksel şekilde *Spirulina* biyokütlesini protein kaynağı olarak değerlendirmektedir (Şekil 2.3.) (Henrikson 2010). Afrika'nın birçok ülkesinde, hala ana protein kaynağı olarak insan gıdası olarak kullanılan *Spirulina* biyokütlesi durgun sulardan (alkali göllerden) toplanıp kurutulmakta ve tüketilmektedir. Bununla birlikte *Spirulina*, balık, karides ve kümes hayvan yemlerinin tamamlayıcı bir diyet bileşeni olarak kullanılmaktadır.

Monera aleminin Cyanobacteria (Yunanca mavi anlamına gelen cyano) bölümünün bir cinsi olan Cyanophyta bölümüne ait olan *Spirulina* cinsi 1827'de Turpin tarafından *Spirulina oscillarioides* için oluşturulmuştur. Bu cinsin başta gıda endüstrisi ve tıp olmak üzere farklı alanlarda yaygın olarak kullanılan en önemli türleri *S. platensis*, *S. maxima* ve *S. fusiformis* olarak belirtilmektedir (Koru 2007, Henrikson 2010, Koru 2012, Sotiroudis 2013, Saranraj ve Sivasakthi 2014, Seyidoglu vd. 2016, Sharma vd. 2019, Nege vd. 2020, Nirae 2021).



Şekil 2.3. Çad Gölü bölgesinde Kanembou kabilesinin *Spirulina* hasadı, kurutması ve satışı

Spirulina türlerinin sistematikteki yeri sırasıyla şu şekildedir:

ŞUBE : *Cyanophyta*

SINIF : *Cyanophyceae*

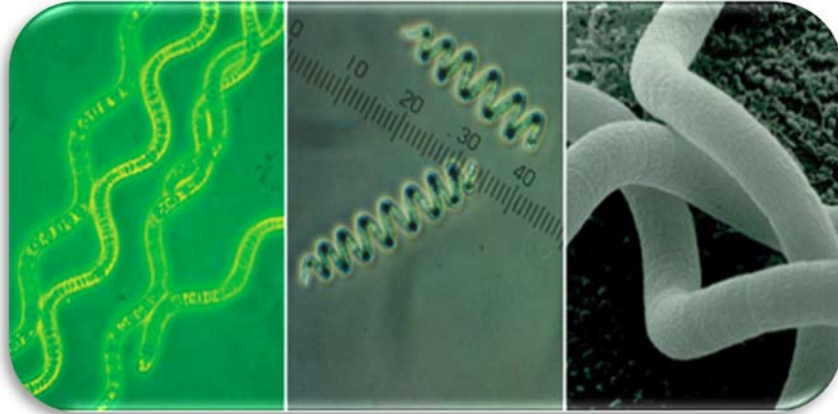
TAKIM : *Nostocales*

AİLE : *Oscillatoriaceae*

CİNS : *Spirulina*

TÜR : *Spirulina platensis*, *S. laxissima*, *S. toliara*, *paracas*, *S. maxima*

Spirulina (Arthrospira) platensis, *Cyanophyceae* sınıfından silindirik gibi şekillenen filamentli yapıda ve çok hücreli (multiselüler) bir mikro algdır. Spiralli hücre yapısı sebebiyle *Spirulina* olarak adlandırılmaktadır. Fotosentez yaptığı tanımlanan ilk prokaryot hücrelerdir. Karbondioksit ve su moleküllerini karbon bileşenlerine parçalamak için ışık enerjisini kullanarak serbest oksijeni açığa çıkarırlar. 1- 12 µm çapında mavi-yeşil iplikçiklerden oluşmaktadır (Şekil 2.4.)



Şekil 2.4. *Spirulina platensis*' in mikroskop görüntüleri

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), *Spirulina platensis*'i yirmi birinci yüzyılın "süper gıdası" ve "denizden gelen bir mucize" olarak tanımlamaktadır. Ayrıca Ulusal Sağlık Enstitüleri'ne (NIH) göre *S. platensis*, kilo kaybı, diyabet ve yüksek kolesterol dahil olmak üzere sinir sistemi ve metabolizma rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılabilir. *S. platensis*, yaklaşık %60-65 protein içeriğine sahiptir. Doğada en zengin yüksek biyolojik değerde protein olarak ifade edilen *S. platensis*'e en yakın protein kaynağı olan soya fasulyesinin iki katı kadardır. Zengin doğal B₁₂ vitamini kaynağı olan biyokütle tüm esansiyel aminoasitleri, esansiyel yağ asidi olan γ -linolenik asit (GLA), sülfolipidler,

glikolipidler ve polisakkaritler, demir, E vitamini, klorofil, beta-karoten, fikosiyanin bakımından zengindir (Çizelge 2.2.) (Chatterjee 2012). Bilinen standart sindirim proteinleri (et, yumurta ve süt) ile karşılaştırıldığında, metionin, sistein ve lizin bakımından bir miktar zayıf olmakla birlikte, baklagillerin içerdiği proteinler de dahil olmak üzere tüm bitki proteinlerinden daha üstün görülmektedir (Çizelge 2.3.) (Sotiroudis 2013).

Çizelge 2.2. *Spirulina platensis*'in temel bileşikleri

Besin Maddesi	Yüzde Bileşimi	Detay
Proteinler	60-65	Esansiyel aminoasitler; lizin, metiyonin, treonin, fenilalanin, izolösin, lösin, triptofan, ve valin. Esansiyel olmayan aminoasitler; arginin, sistin, aspartik asit, glisin, glutamik asit, prolin, serin, histidin, alanin ve tirozin
Karbonhidratlar	13,5-15	Glikoz, mannoz, ramnoz, galaktoz, ksiloz ve iki sıra dışı şeker (2-O-metil-L-ramnoz ve 3-O-metil-L-ramnoz)
Yağlar	5-6	PUFA'lar: gama-linolenik asit, linoleik asit, stearidonik asit, EPA, DHA ve araşidonik asit
Vitaminler	<1	Vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B6, vitamin B9, vitamin B12, vitamin C, vitamin D ve vitamin E
Mineraller	~7	Temel mineraller: kalsiyum, potasyum, bakır, krom, magnezyum, demir, fosfor, manganez, sodyum, selenyum ve çinko
Pigmentler	<1	Alfa ve beta-karotenler, ksantofiliz, ekinonon, kriptoksantin, zeaksantin ve lutein, porfirin, klorofil, fikosiyanin, phycoerythrin, phytonadione ve tetrapyrrole
Nem	6-13,5	

Çizelge 2.3. *Spirulina platensis*'in diğer protein kaynakları ile karşılaştırılması

Protein kaynağı	Su (%)	Protein (%)
<i>Spirulina</i>	5	65-70
Sığır eti	56,5	17,4
Tavuk	61,3	19
Sardalya	50	20,6
Alabalık	77,6	19,2
Yoğurt	86,1	4,8
Yumurta	74	12,8
Soya	8	36,7

Spirulina platensis belirtilen besin kompozisyonu nedeniyle üretimi en fazla yapılan mikro alg türlerinden biridir. Günümüzde başta Amerika olmak üzere Japonya, İsrail, Tayvan ve Tayland gibi birçok ülkede büyük ölçülerde kültürü yapılmaktadır. Ülkemizde ilk kez 2000'li yıllarda Ege Üniversitesi bünyesinde havuzlarda üretimi gerçekleştirilmiştir. İlerleyen yıllarda Çukurova ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversiteleri'nde *Spirulina* üretimi gerçekleştirilmiştir (Aydemir 2019).

Sebze ve meyveleri günlük diyetinde yeterli oranda tüketemeyen insanlar, *Spirulina*'yı tablet ya da toz halinde tüketebilmektedir. Bununla birlikte sporla uğraşan kişilere enerji vermesi için önerilmektedir. Ayrıca, hamile ve emziren anneler, gelişim çağındaki çocuklar, yaşlılar, cilt bozuklukları yaşayan kişiler, kanser hastaları gibi iyi beslenmesi gereken kişilerin diyetinde destekleyici olarak kullanabilmektedir. Günümüzde düşük kalorili olması açısından *Spirulina platensis* içeren takviyeler detoks ya da zayıflama diyeti olarak da değerlendirilmektedir. *Spirulina* diyet takviyesinin antilipidemik, antidiyabetik, antiviral, antihistaminik ve antikarsinojenik özellikleri yapılan birçok klinik çalışma ile belirtilmektedir (Karkos vd. 2011, Aydemir 2019).

2.5. Yapılan Çalışmalar

Spirulina platensis ile yapılan çalışmalar ağırlıklı olarak fonksiyonel gıda üretmek ve gıdalardaki besin değerini arttırmak üzerine yoğunlaşmaktadır.

Varga vd. (2002), yaptıkları çalışmada *Spirulina platensis*'in farklı iki sıcaklıkta depolanan probiyotik fermente süt ürününün mikrobiyolojisi üzerine etkisini araştırmayı amaçlamışlardır. *Spirulina* eklenmiş ve kontrol örnekleri 40 °C'de 6 saat boyunca fermente edilmiş ve sonrasında 15 °C'de 18 gün ve 4 °C'de 42 gün depolanmıştır. Mikrobiyolojik analizler ve asitlik ölçümleri düzenli aralıklarla yapılmış, sonucunda her iki depolama sıcaklığında da başlangıçtaki mikroorganizma sayılarının depolama boyunca istenen miktarlarda olduğu belirtilmiştir. *Spirulina* depolama sıcaklığından etkilenmeden probiyotik bakterilerin hayatta kalmasını olumlu yönde etkilemiş olarak belirtilmiştir.

Shin vd. (2008)'nin yaptığı çalışmada *Spirulina platensis* ilaveli yoğurtların kalite özellikleri ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. *S. platensis* tozu ilavesi ile laktik asit bakterilerinin büyümesinin desteklendiği ve titre edilebilir asitliğin arttığı gözlemlenmiştir. *S. platensis* içeren yoğurdun hidroksil radikal süpürücü aktivitesi ve besin miktarları kontrol yoğurduna göre yüksek bulunmuştur.

Mazinani vd. (2016), yaptıkları çalışmada *Spirulina platensis* eklenmesinin *Lb. acidophilus* ve *Mentha longifolia* L. içeren peynirin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Üretilen peynirler 45 gün 4 °C'de depolanmış ve analizler gerçekleştirilmiştir. Ulaşılan sonuçlarda *Spirulina* ilavesinin depolama süresince peynirin sertliğini, demir ve protein miktarını önemli ölçüde etkilediğini bildirmişlerdir. Ayrıca mikrobiyolojik analizler sonucunda *Spirulina* ilavesinin depolama sırasında *Lb. acidophilus* canlılığını olumlu etkilediği bildirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, *Spirulina platensis*'de bulunan bazı biyoaktif bileşenlerin ısıya duyarlı oldukları da dikkate alınarak dondurma ve yumuşak peynir ürünlerine ilave edilmiştir. Bu çalışma ile ürüne eklenen, duyuşal ve fiziksel özellikler açısından kabul

edilebilir maksimum alg miktarını belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda yumuşak peynir için %1, dondurma için %1,2 *Spirulina platensis* ilavesi en iyi miktar olarak belirtilmiştir. *Spirulina platensis* ilavesi, ürünler üzerinde protein, yağ, β karoten, doku gibi özellikler üzerinde önemi etkiler yaratmış olarak bildirilmiştir (Agustini ve diğerleri 2016).

Barkallah vd. (2017), yaptıkları çalışmada yüksek besin özelliklerine sahip yoğurt üretimi için doğal bir bileşen olarak *Spirulina* kullanmışlardır. Farklı konsantrasyonlarda (%0,25; %0,5; %0,75 ve %1) *Spirulina* ilave edilen yoğurtların fermantasyon süreçleri, dokuları ve duyuşal özelliklerini değerlendirmişlerdir. Denenen konsantrasyonlar arasında, %0,25 *Spirulina* ilavesi gerçekleştirilen yoğurt örneğinde fermantasyonunu hızlandırdığını ($p < 0,05$) ve duyuşal özelliklerinin kabul edilebilirliğini koruduğunu belirtmişlerdir. İşleme birlikte 28 günlük depolama sürecinin sonunda su tutma kapasitesinde iyileşme ve daha düşük peynir altı suyu gözlemlenmiştir. Çalışma sonunda *Spirulina*'nın yüksek besin özelliklerine sahip yoğurt üretimi için kullanılabilceğı bildirilmiştir.

Sengupta vd. (2018), çalışmalarında *S. platensis* ve soya yoğurdunun kolesterol düşürücü etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla *Spirulina* ile zenginleştirilmiş soya sütleri (%0,5 %1 ve %1,5) ile üretilmiş soya yoğurtlarıyla beslenen hiperkolesterolemik bir fare modeli oluşturmuşlardır. Hiperkolesterolemik farelerde total kolesterolde belirgin bir azalma ve HDL-C'de iyileşme görülmüştür. *Spirulina* ilavesi; azalmış glutatyon, süper oksit dismutaz, katalaz gibi hepatik antiokşidan enzimlerde artışa, serum aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz, alkalın fosfataz, gama glutamil transrefaz ve tiyobarbitürik asit gibi maddelerde azalmalara neden olmuş şekilde bildirilmiştir. Sonuç olarak *S. platensis* ilaveli soya yoğurdunun antiaterojenik, hipolipidemik etkileri olan fonksiyonel gıda ürünü üretiminde yeni bir yaklaşım sağladığı belirtilmiştir.

Castro vd. (2019) yaptıkları çalışmada, *Spirulina*'yı *Lactobacillus plantarum* ile fermente ederek algin biyoaktif profilini geliştirmeyi amaçlamışlardır. Ulaştıkları sonuçlarda; 36 saatlik fermantasyon sonunda toplam fenolik içerik %112, FRAP (ferrik indirgeyici antioksidan gücü) %85, ORAC (oksijen radikal tutma kapasitesi) %36 arttırılmış; 24 saat sonunda DPPH (radikal süpürme kapasitesi) %60 artarken, 72 saat sonunda serbest metiyonin içeriğı %94 artmış ve son 36 saatte ısıya duyarlı antioksidanların bozulması

nedeniyle toplam antioksidan kapasite azalmış olarak bildirmişlerdir. Bunlarla birlikte protein parçalanması ve serbest metiyonin içeriğinin fermantasyon süresiyle doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür.

Golmakani vd. (2019) yaptıkları çalışmada, *Spirulina* ilavesinin beyaz peynir içerisindeki probiyotik *Lactobacillus casei*'nin büyümesi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Peynirin kimyasal ve duyuşal özellikleri değerlendirilerek, 60 günlük depolama sonunda *Spirulina* örneklerinde (9,10-9,35 log kob g⁻¹) kontrol örneklerine (8,68 log kob g⁻¹) oranla *Lb. casei* sayısında önemli bir artış olduğu bildirilmiştir. *Spirulina* örneklerinde titre edilebilir asitlik, kuru madde ve protein miktarı değerleri kontrol örneklerinden yüksek olarak belirtmiş ve bu örneklerin daha yumuşak dokular sergilediğini eklemiştir. Duyusal değerlendirmelerinde %0,5 ve %1 alg içeren örnekler ile kontrol örnekleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığını gözlemlemiştir. Sonuçlarında *Spirulina* ilavesinin beyaz peynir özelliklerini olumsuz olarak etkilemediğini ve ilave bir besin kaynağı olarak kabul edilebileceğini bildirmişlerdir.

Fithriani ve Sinurat (2019), *Spirulina*'nın fitosterol içeriğini ve amino asit profilini değerlendirmek üzere bir araştıma yapmışlardır. Algleri beta-sitosterol ve stigmastreol içeriği ve amino asit profili bakımından test etmişlerdir. Sonuçlarında; glutamik asit (75320,79 ppm), leusin (58568,49 ppm) ve aspartik asit (43830,78 ppm) bakımından zengin görülmüş ve insan beslenmesinde fonksiyonel amino asit kaynağı olarak tavsiye edilmiştir. *Spirulina*'nın %5,39±2,29 beta-sitosterol ve 7,61±2,01 stigmasterol içerdiği belirtilmiştir.

Niccolai vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, *Spirulina platensis*'in probiyotik bakteri *Lactobacillus plantarum* tarafından tek substrat olarak kullanımı değerlendirilmiştir. Ayrıca laktik asit fermantasyonunun *S. platensis* biyokütlesinin sindirilebilirliğini ve antioksidan aktivitesini nasıl etkilediği araştırılmıştır. 48 saat süren fermantasyon sonunda bakteri konsantrasyonu 10,6 log kob mL⁻¹ ve laktik asit konsantrasyonu 3,7 g L⁻¹ e ulaşmış olarak belirtilmiş ve *Spirulina*'nın *Lb. plantarum* büyümesi için uygun bir substrat olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca sindirilebilirlik %4,4 oranında değişmiş olup istatistiksel olarak anlamlı görülmemiş, antioksidan aktivite ve

toplam fenolik içeriğin fermantasyon sonunda %79 ve %320 oranında arttığı bildirilmiştir.

Tohamy vd. (2019), yaptıkları çalışmada son ürünün beslenme ve sağlık değerlerini artırmak amacı ile işlenmiş peynire *Spirulina platensis* ilavesi gerçekleştirmişlerdir. Bu amaçla işlenmiş peynire toz formda %2, %4 ve %6, bulamaç formda %4 oranında alg ilave edilmiştir. Peynirlerin kimyasal ve duyuşal özellikleri soğuk depolarda 5-7 °C'de 3 ay içinde değerlendirilmiştir. En iyi duyuşal özelliği %2 alg içeren peynir örneği gösterirken onu %4 takip etmiş ve %6 ilaveli peynir örneği kabul edilemez olarak bildirilmiştir. Yapılan kimyasal analizlerde protein, kül, lif, selenyum, çinko, demir, magnezyum ve potasyum miktarlarında artış olduğu gözlenmiş ve antioksidan miktarları kontrol örneğine oranla daha yüksek bulunmuş olarak belirtilmiştir. Çalışma sonunda belirtilen sonuçlarda *S. platensis* ilavesi gerçekleştirilmiş peynirlerin, nutrasötik gıda olarak kullanıma uygun, beslenme ve sağlık açısından faydalı olduğu dile getirilmiştir.

İlhan vd. (2020) yaptıkları çalışmada, ekmek hamuruna farklı oranlarda (%0,1-0,5-1,0-3,0 ağırlıkça) *Spirulina platensis* tozu ilave edilerek üretilen ekmeklerde çeşitli kimyasal, fizikokimyasal, duyuşal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Duyuşal analizler sonunda %0,1 oranda *S. platensis* içeren ekmeklerde kabul edilebilirlik en yüksek bulunmuştur. Ekmek örneklerinde protein ve toplam fenolik madde miktarı ilave edilen toz oranıyla doğru orantılı olarak artmıştır. Çalışmada protein miktarının %7,54-9,97, toplam fenolik madde miktarlarının 118,22-167,61 mmol GAE g⁻¹ aralığında değişim gösterdiği belirtilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada ALGAMAX® markasına ait organik *Spirulina* (mavi-yeşil alg) tozu kullanılmıştır.

Kullanılan *Lactobacillus acidophilus*, Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği anabilim dalından stok kültür olarak temin edilmiş, steril MRS Broth içerisinde zenginleştirilerek kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan *Lactobacillus acidophilus* ve *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*)' in fermantasyona uğratılması sonucu elde edilen örnekler analiz süresince -80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.1. Materyallere Uygulanan Ön İşlemler

Çalışmada farklı miktarlarda (0,1 g, 0,55 g ve 1 g) *Spirulina platensis*, ısıtma işlemi (121°C, 15 dakika) uygulanmış steril durumdaki yirmi beşer mL saf su içeren tüplere aktarılmış ve üzerlerine birer mL *Lactobacillus acidophilus* ilave edilmiştir. Hazırlanan ortam 0, 36 ve 72. saatlerde gereken analizler yapılmak üzere 37°C'de anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir.

Çalışmanın diğer kısmında farklı miktarlarda (0,1 g, 0,55 g ve 1 g) *Spirulina platensis* yirmi beşer mL saf su içeren tüplere aktarılmış ve ardından ısıtma işlemi (121°C, 15 dakika) uygulanmıştır. Steril durumda bulunan ısıtma işlemi uygulanmış tüpler içerisine birer mL *Lactobacillus acidophilus* ilave edilmiş ve 0, 36 ve 72. saatlerde gereken analizler yapılmak üzere 37°C'de anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir.

Gelişimi kıyaslamak amacı ile aynı şekilde ısıtma işlemi uygulanmış ve uygulanmamış şekilde saf su yerine yirmi beşer mL %2 glikoz içeren tüplere farklı oranlarda (0,1 g, 0,55 g ve 1 g) *S. platensis* ve birer mL *Lb. acidophilus* eklenerek 0., 36. ve 72. saatlerde gereken analizler yapılmak üzere 37°C'de anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir. Kontrol örneği olarak 25 mL steril saf su içeren tüplere birer mL *Lb. acidophilus* eklenerek aynı koşullarda inkübasyonu sağlanmıştır.

3.1.2. Gerekli Kimyasallar

Çalışmamızda yapılan fiziksel ve kimyasal analizler ve ekstrakt hazırlamak için kullanılan analitik saflıktaki kimyasallar; Folin reaktifi, Sodyum karbonat (Na₂CO₃), Bakır(II) Klorür (CuCl₂), Neocuproine (Nc), Amonyum Asetat (C₂H₇NO₂), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), metanol, etanoldür. Tüm analizlerde distile su kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

Belirlenen saatlerde (0., 36. ve 72.) inkübasyonu tamamlanan örneklere anlık olarak pH tayini, renk analizi, *Lactobacillus acidophilus* gelişimi, kuru ağırlık tayini ve optik yoğunluk tayini yapılmıştır. Bunların yanında Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan Aktivitesi analizi gibi kimyasal analizler de uygulanmıştır.

Spirulina platensis'in prebiyotik özelliğini belirlemek amacıyla Yüzey Yanıt Metoduna (YYM) (Response Surface Methodology) bağlı Merkezi Bileşen Deneme Desenine (Central Composite Design (CCD)) göre hazırlanan faktörler ve deneme deseni sırasıyla Çizelge 3.1. ve Çizelge 3.2.'de verilmiştir. Burada *Lactobacillus acidophilus*'un probiyotik özellik gösterecek sayıda olmasını belirlemek üzere biyomas ilavesi, fermentasyon süresi ile besiyeri özellikleri etkili değişken faktörler olarak belirlenmiştir. Deneme deseni, Design Expert 11.0.5 paket programı kullanılarak oluşturulmuştur.

Çizelge 3.1. Deneme deseni faktörleri

Kodu	Faktör	Alt Limit	Üst Limit
A	Biyomas İlavesi	0,1	1
B	Fermentasyon Süresi	0	72
C	Besiyeri Özelliği	Saf Su	Isıl İşlem+%2 Glikoz

Çizelge 3.2. Deneme deseni ve uygulanan denemeler

		Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3
Std	Run	A: Biyomas İlavesi (g)	B: Fermantasyon Süresi (h)	C: Besiyeri Özelliği
1	37	0,1	0	Saf Su
2	34	0,55	0	Saf Su
3	19	1	0	Saf Su
4	6	0,1	36	Saf Su
5	8	0,55	36	Saf Su
10	27	0,55	36	Saf Su
6	24	1	36	Saf Su
7	28	0,1	72	Saf Su
8	4	0,55	72	Saf Su
9	2	1	72	Saf Su
11	30	0,1	0	Isıl İşlem+Saf Su
12	29	0,55	0	Isıl İşem+Saf Su
13	23	1	0	Isıl İşem+Saf Su
14	5	0,1	36	Isıl İşem+Saf Su
15	13	0,55	36	Isıl İşem+Saf Su
20	36	0,55	36	Isıl İşem+Saf Su
16	16	1	36	Isıl İşem+Saf Su
17	31	0,1	72	Isıl İşem+Saf Su
18	1	0,55	72	Isıl İşem+Saf Su
19	12	1	72	Isıl İşem+Saf Su
21	35	0,1	0	%2 Glikoz
22	38	0,55	0	%2 Glikoz
23	21	1	0	%2 Glikoz
24	39	0,1	36	%2 Glikoz
30	3	0,55	36	%2 Glikoz
25	15	0,55	36	%2 Glikoz
26	18	1	36	%2 Glikoz

27	14	0,1	72	%2 Glikoz
28	22	0,55	72	%2 Glikoz
29	10	1	72	%2 Glikoz
31	20	0,1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz
32	9	0,55	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz
33	25	1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz
34	17	0,1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz
40	7	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz
35	11	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz
36	33	1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz
37	26	0,1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz
38	40	0,55	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz
39	32	1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz

3.2.1. pH Tayini

0, 36 ve 72. saatlerde örneklerin pH değerlerine HI 2211 pH/ORP Meter cihazı ile belirlenmiştir.

3.2.2. Renk Analizi

0, 8, 48 ve 72. saatlerde örneklerin renk okumaları Minolta CR400 renk ölçüm cihazı (Şekil 3.1.) ile yapılmıştır. Cihaz ve örnek görselleri Şekil 3.2.'de gösterilmektedir. Analizler 3 paralelli olarak yapılmış ve sonuçlar L^* , a^* , b^* değerleri ile ifade edilmiştir.



Şekil 3.1. Minolta CR400 renk ölçüm cihazı ve örnekler

3.2.3. Kuru Ağırlık Tayini

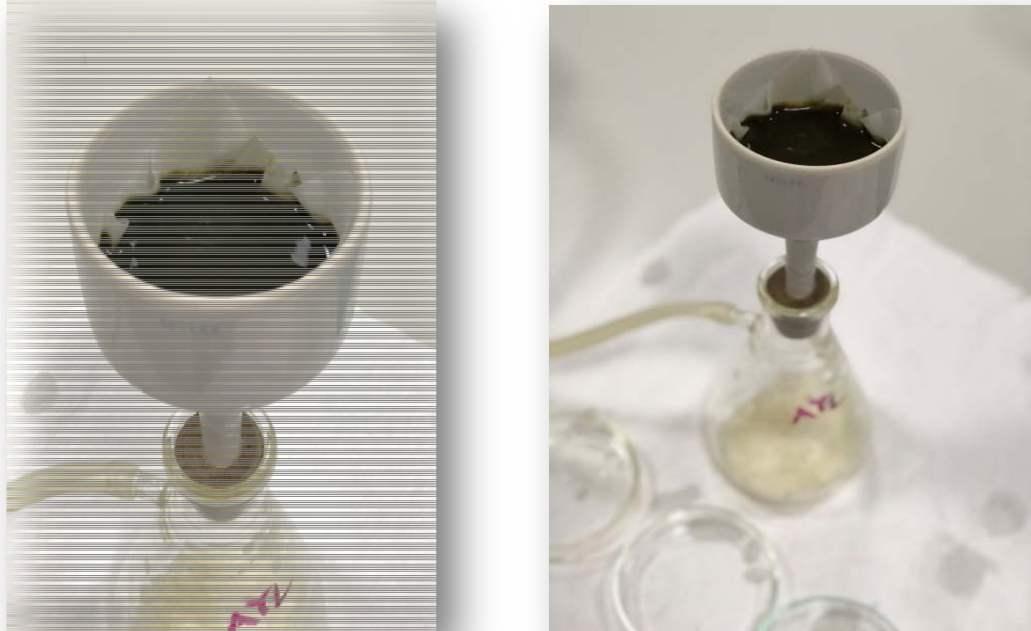
Gelişme ortamından alınan 10 mL örnek, darası alınmış 0,45 M gözenek çapındaki filtre kağıdından vakum filtrasyon düzeneğiyle filtre edilmiştir. Distile su ile yıkanan örnekler vakumlu etüv yardımıyla 70°C’de 24 saat süreyle kurutulmuştur. Kurutma öncesi yaş ağırlık ve kurutma sonrası ağırlık kaydedilmiştir. Analize ait görseller Şekil 3.2.’de verilmiştir. Sonuçlar %kuru ağırlık denklemine göre (3.1) ifade edilmiştir.

$$\% \text{Kuru ağırlık} = \frac{M3-M1}{M2-M1} \times 100 \quad (3.1)$$

M1: Filtre kağıdının ağırlığı (g)

M2: Üzerinde örnek bulunan filtre kağıdının kurutma işlemi öncesi ağırlığı (g)

M3: Üzerinde örnek bulunan filtre kağıdının kurutma işlemi sonrası ağırlığı (g)



Şekil 3.2. Vakum filtre düzeneğinden süzülen örnekler

3.2.4. Optik Yoğunluk Tayini

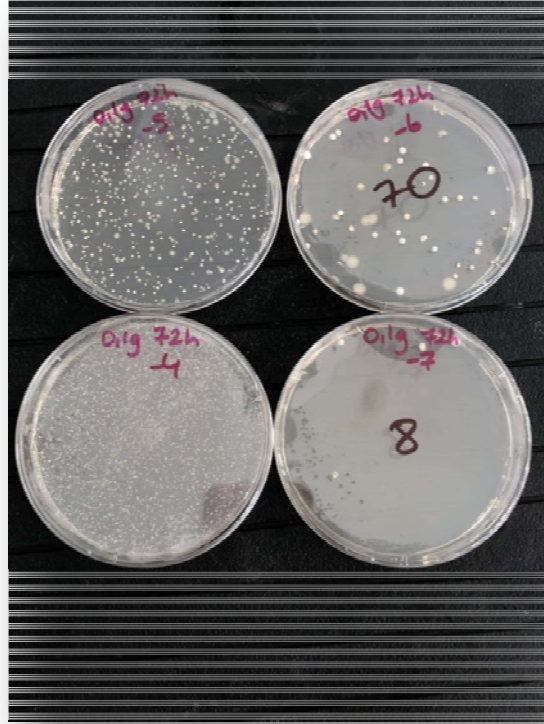
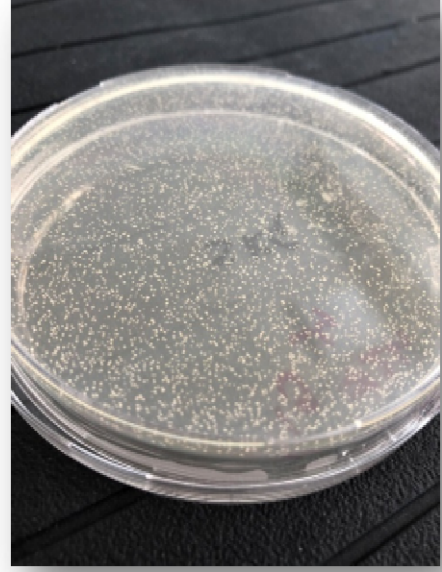
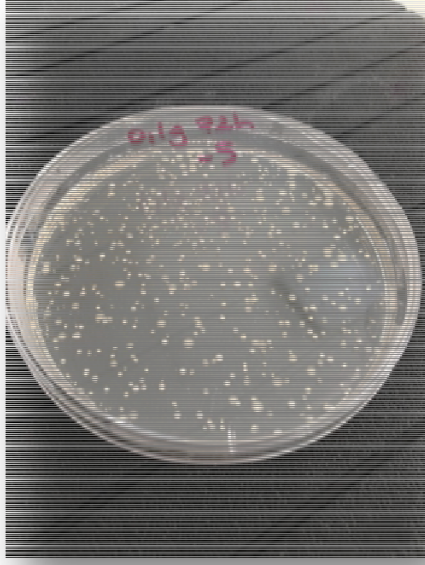
Lactobacillus acidophilus'un gelişimi optik yoğunluk üzerinden değerlendirileceği için, gelişme ortamlarından alınan fermantasyon ürünlerinin optik yoğunluk absorbans okumaları 3 mL örnek ile 600 ve 680 nm'de UV/VIS Spektrofotometresi (Shimadzu UV-1280) ile anlık olarak yapılmıştır (Santos Ballardo vd. 2015). Analize ait görsel Şekil 3.3.'de verilmiştir.



Şekil 3.3. UV/VIS Spektrofotometresi (Shimadzu UV-1280) ve analiz edilen örnekler

3.2.5. *Lactobacillus acidophilus* Sayımı

Fermantasyonunun belirlenen saatlerinde gelişimi tamamlanan ve istenen oranda seyreltilen (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}) örneklerden steril petrilere birer mL aktarılmıştır. Üzerine MRS agarlı besiyeri dökülmüş ve karıştırılmıştır. Besiyeri donan örnekler ters şekilde anaerobik jarlara alınarak 37 °C'de 72 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda gelişen koloniler sayılmıştır (Şekil 3.4.). Sonuçlar log kob mL⁻¹ olarak ifade edilmiştir.

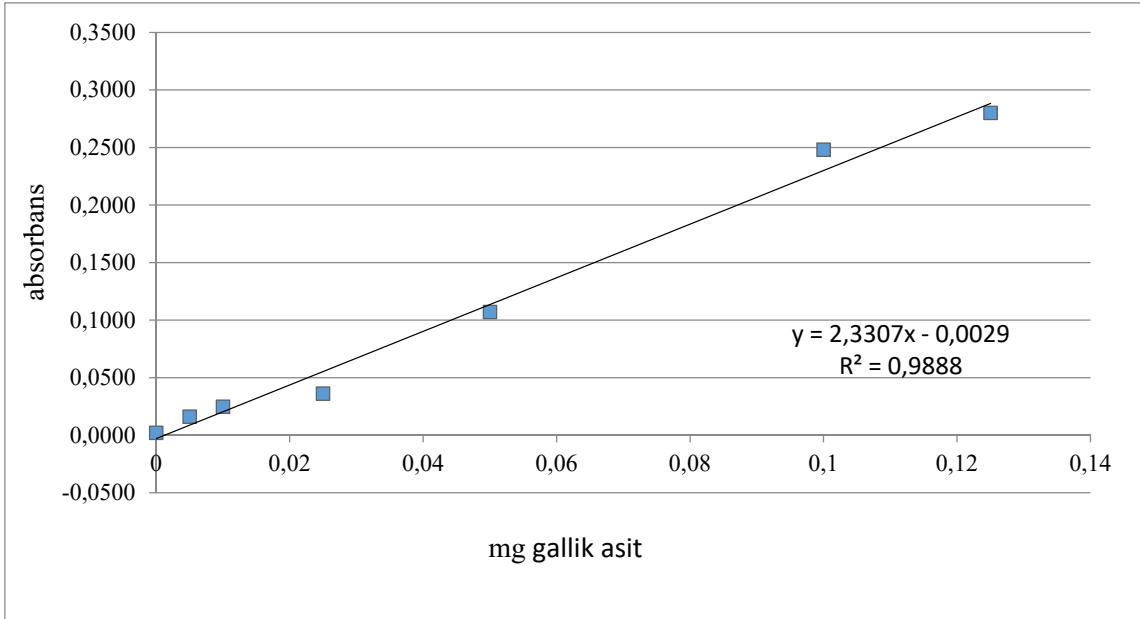


Şekil 3.4. MRS agar üzerinde *Lb. acidophilus*'un gelişimi

3.2.6. Toplam Fenolik Madde Miktarının Saptanması

Toplam Fenolik içeriği Colla ve diğeri (2007)'na göre Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiştir. 0,1 mL gelişimi tamamlanan örnek (örnekler 1:5 metanol ile analize hazırlanmıştır), 1 mL %10'luk Folin reaktifi ile karıştırılmış, üzerine 1,5 mL %7,5'luk sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi ilave edilmiştir. Ardından 10 mL hacme tamamlanmış ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda tüm örneklerin köre karşı 760 nm'de (T60 UV/VIS Spektrofotometresi) absorbansları okunmuştur. Sonuçlar "mg (GAE) g^{-1} " olarak ifade edilmiştir.

100 mg L^{-1} 'lik stok gallik asit çözeltisinden farklı konsantrasyonlar hazırlanarak örneklerdeki analiz aşamaları uygulanmış ve 760 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Örneklerin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarları, gallik asit ile hazırlanan standart eğrinin denkleminde örnekler için "mg gallik asit eşdeğeri (GAE) g^{-1} ekstrakt" olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.5.)



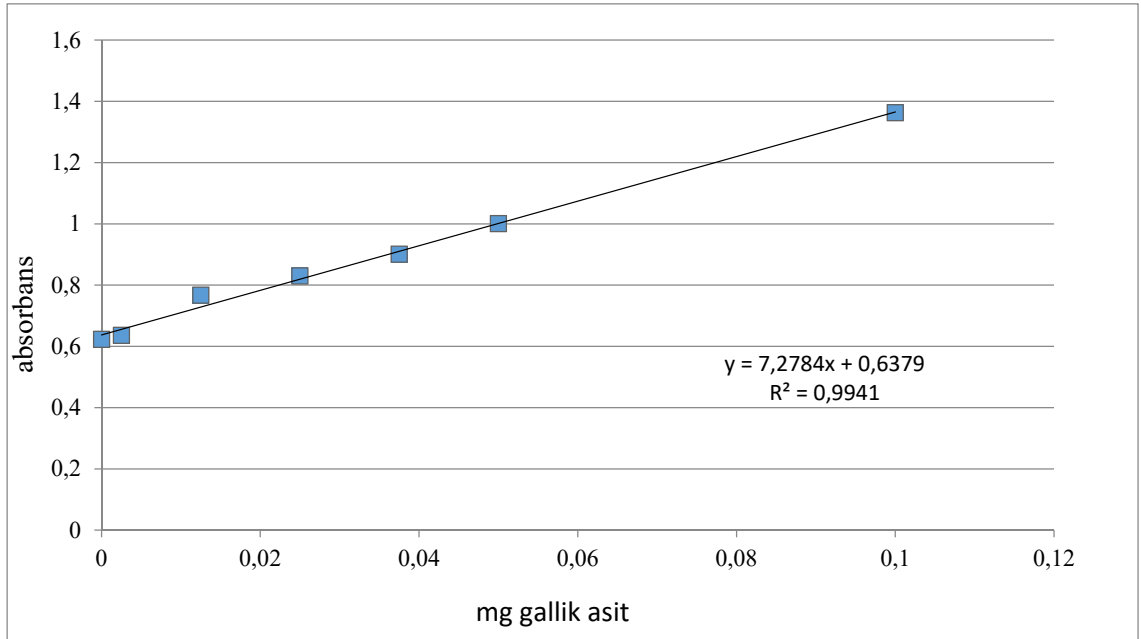
Şekil 3.5. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi için kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği

3.2.7. Antioksidan Aktivite Tayini

Cu(II) İyonu İndirgeyici (CUPRAC) Antioksidan Kapasite Tayini

CUPRAC Antioksidan tayini Apak ve diğerleri (2004)'nın belirttiği şekilde, santrifüj tüpü içerisine sırasıyla 1 mL Bakır(II) Klorür (CuCl_2), 1 mL Neocuproine (Nc), 1 mL Amonyum Asetat ($\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_2$) çözeltileri, üzerine 0,6 mL ekstrakt (örnekler 1:5 metanol ile analize hazırlanmıştır) ve 0,5 mL saf su ilave edilerek toplam hacim 4,1 mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Karışım 15 saniye vortekslenmiş ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda tüm örneklerin köre karşı 450 nm'de (T60 UV/VIS Spektrofotometresi) absorbansları okunmuştur.

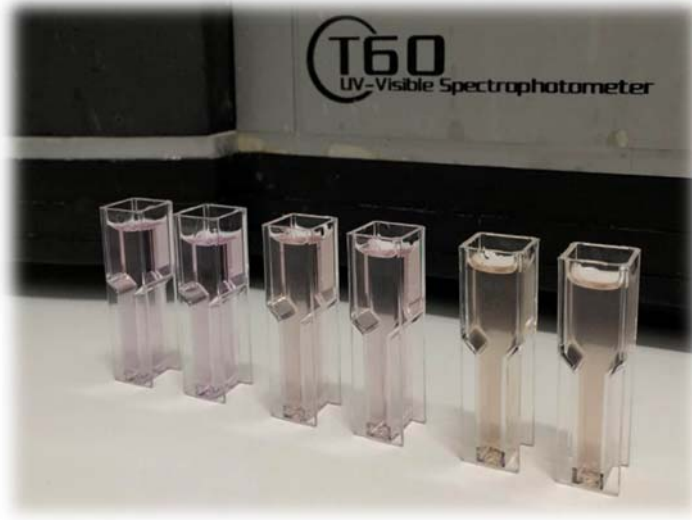
100 mg L^{-1} 'lik stok gallik asit çözeltilerinden farklı konsantrasyonlar hazırlanarak örneklerdeki analiz aşamaları uygulanmış, 450 nm'de absorbans değerleri okunarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 3.7.).



Şekil 3.6. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivitenin belirlenmesi için kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği

DPPH Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini

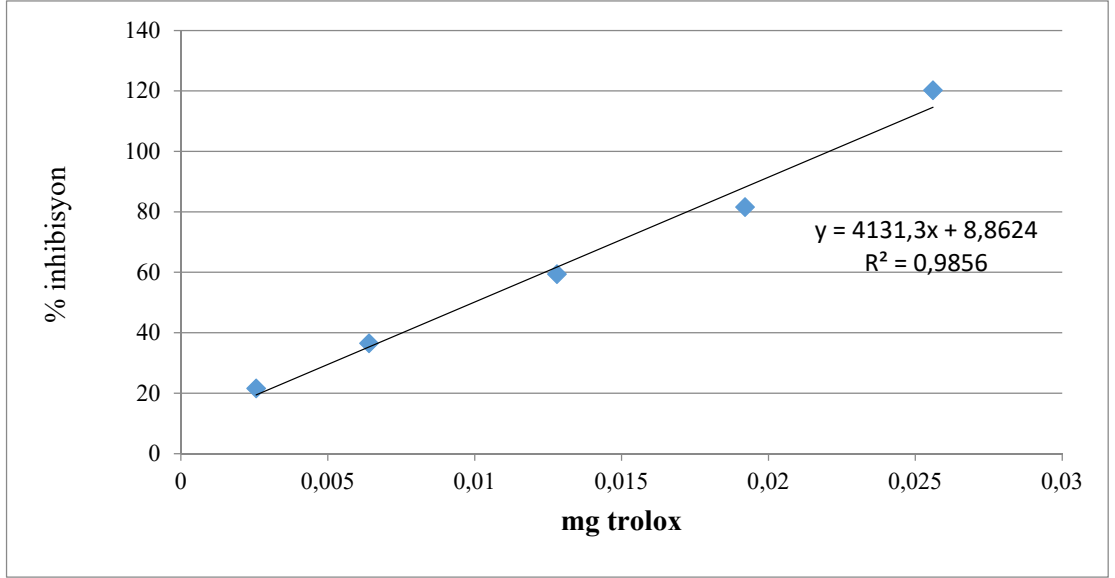
Kepekçi (2011)'nin belirttiği metot uygulanarak, metanolde hazırlanmış stok DPPH çözeltisi metanol ile seyreltilmiştir. 0,1 mL örnek (örnekler 1:5 metanol ile analize hazırlanmıştır) üzerine bu seyreltilmiş DPPH çözeltisinden 3,9 mL eklenip 30 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 515 nm'deki absorbanans değeri (T60 UV/VIS Spektrofotometresi) ölçülmüştür (Şekil 3.7.).



Şekil 3.7. DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitenin belirlenmesi için örnek hazırlanması

Sonuçların “% inhibisyon” değerleri (3.2) numaralı eşitlik yardımıyla hesaplanarak, kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. örneklerin antioksidan aktiviteleri troloks kalibrasyon grafiklerinden yararlanılarak “mg troloks eşdeğeri (TE) g⁻¹ ekstrakt” olarak hesaplanmıştır. Analizler 2 paralelli olarak yapılmıştır (Şekil 3.8.).

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{\text{Kontrolün Absorbansı} - \text{Örnek Absorbansı}}{\text{Kontrol Absorbansı}} \times 100 \quad (3.2)$$



Şekil 3.8. DPPH metodu antioksidan aktivite tayini hesaplaması için kullanılan troloks kalibrasyon grafiği

3.2.9. İstatistiki Analiz

Araştırma sonucunda elde edilen sonuçların optimizasyon ve validasyonu için MİNİTAB 19 programı kullanılmıştır. Sonuçlar 3 tekerrürlü ölçümlerin ortalaması± standart sapma olarak gösterilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. pH Değişimi

Prebiyotik bakterilerin sindirim sisteminde sindirilmeden kolona ulaşması ve buradaki mikrobiyota tarafından fermente edilmesi ile ortam asitliği artmaktadır. pH'nın ek asitliğin arttığı ortamlarda patojenlerin gelişimi engellenirken, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri gibi yararlı mikroorganizmaların aktivitesi artmaktadır (Kandil 2019, Teksoy 2020). Bu nedenle pH değerindeki değişimler yararlı mikroorganizmaların gelişimini takip etmek için iyi bir araçtır.

Çizelge 4.1. pH değişimi deney sonuçları

Std	Run	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	pH
		A: Biyomas İlavesi(g)	B: Fermantasyon Süresi(h)	C: Besiyeri Özelliği	
1	37	0,1	0	Saf Su	4,86
2	34	0,55	0	Saf Su	5,63
3	19	1	0	Saf Su	5,83
4	6	0,1	36	Saf Su	4,08
5	8	0,55	36	Saf Su	5,23
10	27	0,55	36	Saf Su	5,23
6	24	1	36	Saf Su	5,32
7	28	0,1	72	Saf Su	4,11
8	4	0,55	72	Saf Su	5,37
9	2	1	72	Saf Su	5,28
11	30	0,1	0	Isıl İşlem+Saf Su	5,39
12	29	0,55	0	Isıl İşem+Saf Su	6,28
13	23	1	0	Isıl İşem+Saf Su	6,38
14	5	0,1	36	Isıl İşem+Saf Su	4,31
15	13	0,55	36	Isıl İşem+Saf Su	5,06
20	36	0,55	36	Isıl İşem+Saf Su	5,06
16	16	1	36	Isıl İşem+Saf Su	5,37
17	31	0,1	72	Isıl İşem+Saf Su	4,28
18	1	0,55	72	Isıl İşem+Saf Su	5,07
19	12	1	72	Isıl İşem+Saf Su	5,46
21	35	0,1	0	%2 Glikoz	5,22

22	38	0,55	0	%2 Glikoz	6,1
23	21	1	0	%2 Glikoz	6,2
24	39	0,1	36	%2 Glikoz	3,6
30	3	0,55	36	%2 Glikoz	3,56
25	15	0,55	36	%2 Glikoz	3,56
26	18	1	36	%2 Glikoz	3,6
27	14	0,1	72	%2 Glikoz	3,51
28	22	0,55	72	%2 Glikoz	3,41
29	10	1	72	%2 Glikoz	3,47
31	20	0,1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	4,68
32	9	0,55	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	5,81
33	25	1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	5,93
34	17	0,1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,7
40	7	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,65
35	11	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,65
36	33	1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,6
37	26	0,1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,63
38	40	0,55	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,54
39	32	1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,62

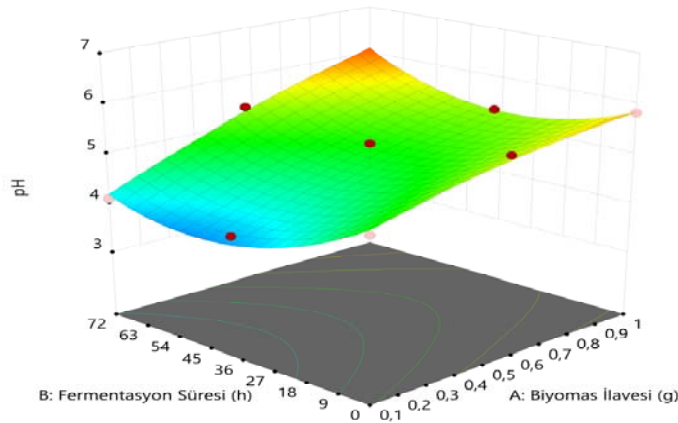
Çizelge 4.1’de verilen pH değişimine ait verilerde en düşük pH değerlerinin genel olarak %2 glikoz içeren ortamlarda gözlemlendiği görülmektedir. Bunların içinde en düşük pH değeri, ısıtma işlemi uygulanmamış %2 glikoz + 0,55 gr *Spirulina* içeren besin ortamında 72. saat gözlemlenmiştir. En yüksek pH değeri ise, ısıtma işlemi uygulanmış saf su + 1 gr *Spirulina* içeren besin ortamında 0. saat gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.2.’de pH değişimine ait istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 18,70 olarak gösterilmiştir ve model istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. Çizelgeden görüldüğü üzere A, B, C, BC, B² faktörleri model için önemli bulunmuştur. Uyum eksikliği F değeri 0,32 değeri ile istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Modele ait p değerinin önemli, ancak uyum eksikliği F değerinin önemsiz bulunması modelin doğruluğunun bir ispatı olarak belirtilebilmektedir.

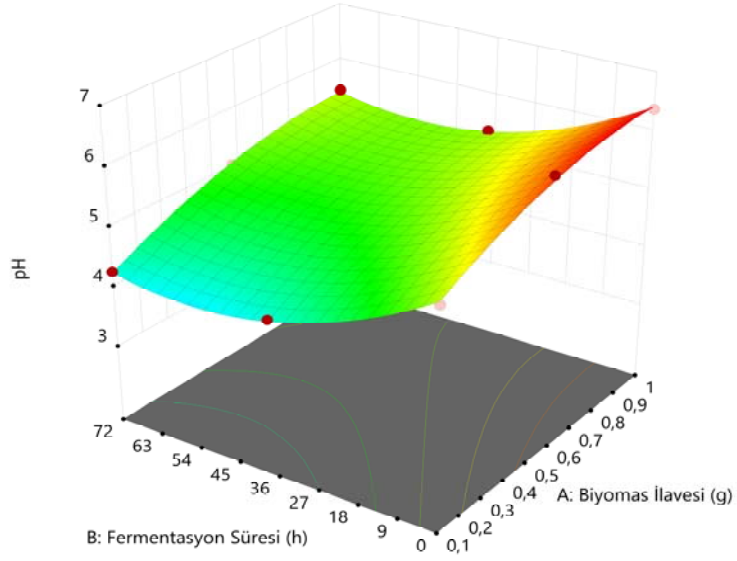
Çizelge 4.2. pH değişimine ait ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	35,50	23	1,54	18,70	< 0.0001	önemli
A- Biyomas İlavesi	2,95	1	2,95	35,76	< 0.0001	önemli
B- Fermentasyon Süresi	13,25	1	13,25	160,46	< 0.0001	önemli
C- Besiyeri Özelliği	8,37	3	2,79	33,80	< 0.0001	
AB	0,1923	1	0,1923	2,33	0,1478	
AC	0,8060	3	0,2687	3,25	0,0514	
BC	2,79	3	0,9314	11,28	0,0004	önemli
A ²	0,1962	1	0,1962	2,38	0,1440	
B ²	5,87	1	5,87	71,14	< 0.0001	önemli
ABC	0,5928	3	0,1976	2,39	0,1092	
A ² B	0,0473	3	0,0158	0,1911	0,9008	
B ² C	0,3696	3	0,1232	1,49	0,2570	
Artık	1,24	15	0,0826			
Uyum Eksikliği	0,5772	11	0,0525	0,3174	0,9409	önemsiz
Hata	0,6613	4	0,1653			
Düzeltilmiş Toplam	36,74	38				
Standart Sapma	0,2873					
R²	0,9663					
Ayarlanmış R²	0,9146					

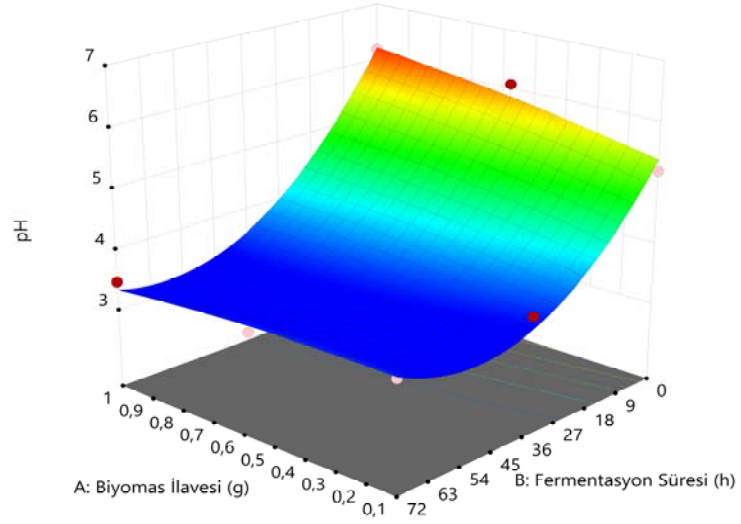
İşlem parametrelerinin *Lactobacillus acidophilus* gelişiminde pH değişimine etkisi ise Şekil 4.1., 4.2., 4.3. ve 4.4.'de verilmiştir.



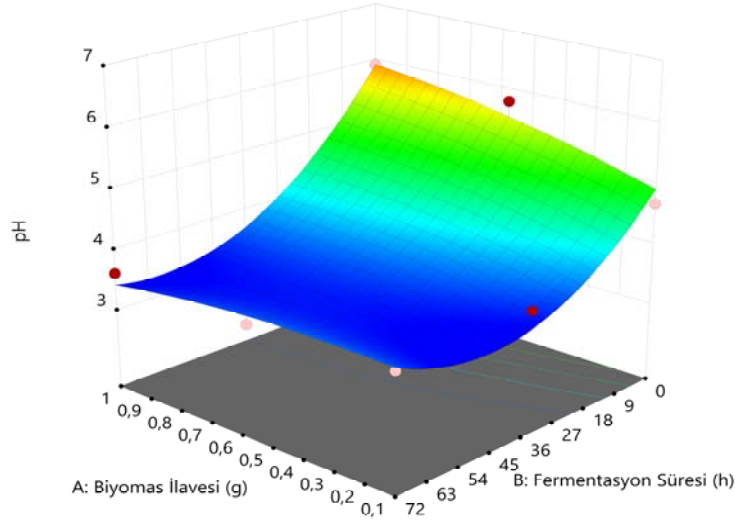
Şekil 4.1. İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un pH değişimine etkisi



Şekil 4.2. İşlem parametreleri ve saf su+ısııl işlem ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un pH değişimine etkisi



Şekil 4.3. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un pH değişimine etkisi



Şekil 4.4. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz+ısıtıl işlem ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un pH değişimine etkisi

Teksoy (2020), yaptığı çalışmada kavun ve karpuz çekirdeklerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*'nin gelişmesi üzerindeki etkisi in vitro fermantasyon ortamında belirlemiştir. En yüksek pH değerini negatif kontrol örneğinde saptarken (6,99), en düşük pH değerini (3,54) glikoz içeren besi ortamında saptamıştır. Farklı substratlar içeren besi ortamında *Lb. acidophilus*'un aktivitesi sonucu oluşan pH değerlerinin 3,96 (fermantasyonun 48. saati glikoz içeren ortam) -6,94 (fermantasyonun 0. saati negatif kontrol) arasında değiştiği saptanmıştır.

Beheshtipour vd. (2012) yaptıkları çalışmada, *Spirulina platensis* ve *Chlorella vulgaris* içeren yoğurt örneklerinde pH, redoks potansiyeli değişiklikleri ve probiyotik bakterilerin fermantasyon ve 28 günlük depolama sürecindeki canlılığını incelemiştir. Çalışma sonuçlarında *Lb. acidophilus* ve *Bifidobacterium lactis*'in canlılığının fermantasyon ve depolama esnasında arttığını ve koruduğunu bildirmişlerdir. *S. platensis* içeren örneklerde daha hızlı asitlik artışı, daha uzun bir kuluçka süresi ve daha yüksek titre edilebilir asitlik görülmüştür. Her iki mikroorganizmada en yüksek canlılığı %1 mikroalg

oranında gösterse de %0,5 mikroalg konsantrasyonu mikroorganizma canlılığını 10^7 kob mL^{-1} 'den yüksek tutmak için yeterli olduğu bildirilmiştir.

4.2. Renk Değişimi

Hunter renk parametreleri; L^* beyazlık veya parlaklık ($L^*=100$ beyazlığı, $L^*=0$ ise siyahlığı), a^* yeşillik ve kırmızılık ($a^* +$ kırmızılığı $a^* -$ ise yeşilliği) ve b^* mavilik ve sarılık ($b^* +$ sarılığı ve $b^* -$ maviliği) şeklindedir (Deveci 2016). Akça (2020).

Çizelge 4.3. Renk değişimi deney sonuçları

Std	Run	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	L	a	b
		A: Biyomas İlavesi (g)	B: Fermantasyon Süresi (h)	C: Besiyeri Özelliği			
1	37	0,1	0	Saf Su	21,12	-2,31	2,48
2	34	0,55	0	Saf Su	19,65	-1,2	1,99
3	19	1	0	Saf Su	19,78	0,05	0,82
4	6	0,1	36	Saf Su	20,59	-1,36	2,11
5	8	0,55	36	Saf Su	21,01	-0,31	1,51
10	27	0,55	36	Saf Su	21,01	-0,31	1,51
6	24	1	36	Saf Su	19,65	0,26	1,85
7	28	0,1	72	Saf Su	20,77	-1,28	1,67
8	4	0,55	72	Saf Su	19,82	-0,39	2,18
9	2	1	72	Saf Su	19,25	0,14	19,98
11	30	0,1	0	Isıl İşlem+Saf Su	20,9	-0,61	1,03
12	29	0,55	0	Isıl İşlem+Saf Su	20,89	-1,3	2,28
13	23	1	0	Isıl İşlem+Saf Su	20,16	-1,3	2,33
14	5	0,1	36	Isıl İşlem+Saf Su	23,35	-1,14	5,27
15	13	0,55	36	Isıl İşlem+Saf Su	22,17	-0,64	5,46
20	36	0,55	36	Isıl İşlem+Saf Su	22,17	-0,64	5,46
16	16	1	36	Isıl İşlem+Saf Su	21,52	-0,93	4,36
17	31	0,1	72	Isıl İşlem+Saf Su	22,83	-0,66	5,37
18	1	0,55	72	Isıl İşlem+Saf Su	22,15	-0,85	5,44
19	12	1	72	Isıl İşlem+Saf Su	23,09	-1,17	4,97
21	35	0,1	0	%2 Glikoz	20,26	-1,34	2,45

22	38	0,55	0	%2 Glikoz	18,42	-0,67	2,36
23	21	1	0	%2 Glikoz	18,49	-0,24	2,02
24	39	0,1	36	%2 Glikoz	21,15	-1,18	3,58
30	3	0,55	36	%2 Glikoz	22,11	-1,14	4,41
25	15	0,55	36	%2 Glikoz	22,11	-1,14	4,41
26	18	1	36	%2 Glikoz	21,68	-1,23	4,41
27	14	0,1	72	%2 Glikoz	21,11	-1,15	3,64
28	22	0,55	72	%2 Glikoz	21,99	-1,09	5,1
29	10	1	72	%2 Glikoz	21,89	-1,1	4,84
31	20	0,1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	21,36	-0,75	3,43
32	9	0,55	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	20,16	-1,25	2,48
33	25	1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	19,83	-0,74	3,55
34	17	0,1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	21,83	-0,81	4,53
40	7	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	22,4	-1,98	3,8
35	11	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	22,4	-1,98	3,8
36	33	1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	21,58	-1,68	3,18
37	26	0,1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	26,16	-1,25	4,67
38	40	0,55	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	26,98	-2,12	4,37
39	32	1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	26,91	-2	4,21

Çizelge 4.3.'te verilen sonuçlara bakıldığında ısıtma işlemi uygulanmamış örneklerde fermantasyon süresi ilerledikçe düzenli bir artış görülmezken ısıtma işlemi uygulanmış besin ortamlarında 36 ve 72. saatlerdeki değerlerde düzgün bir artış görüldüğü belirtilebilir. Buna bağlı olarak ısıtma işlemi uygulamasının fermantasyon ile birlikte gelişimi renk olarak önemli ölçüde etkilediği ve yapılacak çalışmalarda göz önünde bulundurulabileceği söylenebilir.

Spirulina platensis eklenerek üretilmiş yoğurt örneklerinde yaptığı çalışmada, kontrol grubunun renk puanlarının azalma gösterdiğini, *Spirulina platensis* içeren yoğurt örneklerinin renk puanlarının korunmuş ve artış göstermiş olduğunu belirtmiştir. Alglerin yapısında bulunan klorofil, karotenoid ve fikosiyanın gibi pigmentler muhafaza süresince olumsuz bir etki göstermediğini gözlemlemiştir. Barkallah vd. (2017)'nin yoğurt numuneleri ile yaptıkları çalışmada, renk değerleri *Spirulina platensis* konsantrasyonu arttıkça düşüşler göstermiştir. a^* ve b^* değerleri ($p>0,05$) için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak *Spirulina platensis* pigmentlerinin süt ürünlerinde doğal renklendirici olarak faydalı olabileceğini vurgulamışlardır.

Özbal (2020) beyaz çikolata ile yaptığı çalışmada, konsantrasyon arttıkça L^* oranının düştüğünü, *Spirulina platensis* eklenmemiş olan kontrol grubu çikolatanın ise en yüksek L^* değeri ile parlaklığı en iyi olan grup olduğunu belirtmiştir. *Spirulina platensis* miktarının artması ile a^* ve b^* parametrelerine göre, üründe mavilik ve yeşillik kontrol grubuna göre artmış yani toplam renk farklılıkları *Spirulina platensis* artışına paralel bir artış göstermiştir. Lucas vd. (2018) yaptıkları çalışmada *Spirulina platensis* içeren atıştırmalıkların özelliklerini incelemişlerdir. *Spirulina platensis* ilavesi tüm örneklerde renk parametrelerini önemli ölçüde etkilemiştir ($p<0,05$). Yapılan renk analizinde L^* , b^* ve C^* 'nin azalması atıştırmalıkların renklerinin koyulaştığını göstermektedir. Örnekler arasında toplam renk farkı (ΔE) ilgi çekici düzeyde görülmüş ve ticari olarak renk farklılaştırma amaçlı kullanılabileceği bildirilmiştir.

4.3. Kuru Ağırlık Değişimi

Çizelge 4.4. Kuru Ağırlık Değişimi deney sonuçları

		Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	
Std	Run	A: Biyomas İlavesi (g)	B: Fermantasyon Süresi (h)	C: Besiyeri Özelliği	Kuru ağırlık %
1	37	0,1	0	Saf Su	1,75
2	34	0,55	0	Saf Su	7,6
3	19	1	0	Saf Su	12,18
4	6	0,1	36	Saf Su	10,43

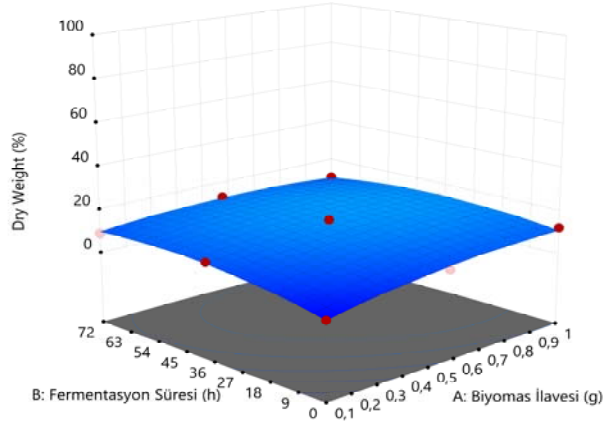
5	8	0,55	36	Saf Su	15,47
10	27	0,55	36	Saf Su	13,01
6	24	1	36	Saf Su	13,01
7	28	0,1	72	Saf Su	8,93
8	4	0,55	72	Saf Su	13,23
9	2	1	72	Saf Su	10,93
11	30	0,1	0	Isıl İşlem+Saf Su	10,62
12	29	0,55	0	Isıl İşem+Saf Su	15,09
13	23	1	0	Isıl İşem+Saf Su	15,04
14	5	0,1	36	Isıl İşem+Saf Su	12,13
15	13	0,55	36	Isıl İşem+Saf Su	14,53
20	36	0,55	36	Isıl İşem+Saf Su	14,53
16	16	1	36	Isıl İşem+Saf Su	15
17	31	0,1	72	Isıl İşem+Saf Su	8,89
18	1	0,55	72	Isıl İşem+Saf Su	14,53
19	12	1	72	Isıl İşem+Saf Su	17,85
21	35	0,1	0	%2 Glikoz	22,99
22	38	0,55	0	%2 Glikoz	14,74
23	21	1	0	%2 Glikoz	11,37
24	39	0,1	36	%2 Glikoz	19,63
30	3	0,55	36	%2 Glikoz	18,56
25	15	0,55	36	%2 Glikoz	18,56
26	18	1	36	%2 Glikoz	16,29
27	14	0,1	72	%2 Glikoz	13,28
28	22	0,55	72	%2 Glikoz	16,26
29	10	1	72	%2 Glikoz	15,82
31	20	0,1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	89,57
32	9	0,55	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	82,94
33	25	1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	94,22
34	17	0,1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	86,18
40	7	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	81,13
35	11	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	81,13
36	33	1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	89,76
37	26	0,1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	85,31
38	40	0,55	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	92,54
39	32	1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	88,13

Çizelge 4.4.'te verilen sonuçlar incelendiğinde en yüksek kuru ağırlık miktarının ısıtılmış işlem görmüş %2 glikoz + *Spirulina* içeren ortamlarda olduğu görülmektedir. Tüm parametreler için fermantasyon süresi ve *Spirulina* miktarı büyük farklılıklar yaratmazken ısıtılmış işlem + %2 glikoz ortamı gelişimi etkilemiş ve kuru ağırlık oranını arttırmıştır.

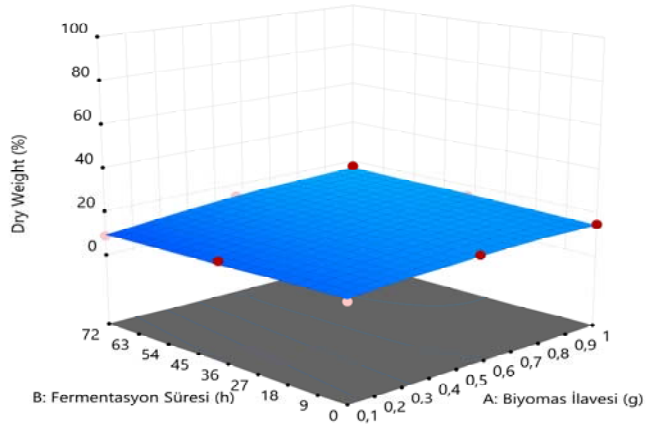
Çizelge 4.5. Kuru ağırlık değişimine ait ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	40215,89	17	2365,64	195,96	< 0.0001	önemli
A-Biyomas İlavesi	45,58	1	45,58	3,78	0,0655	
B-Fermentasyon Süresi	5,27	1	5,27	0,4369	0,5158	
C-Besiyeri Özelliği	39777,70	3	13259,23	1098,35	< 0.0001	
AB	18,05	1	18,05	1,49	0,2350	
AC	116,12	3	38,71	3,21	0,0440	
BC	51,78	3	17,26	1,43	0,2622	
A ²	0,2167	1	0,2167	0,0179	0,8947	
B ²	2,54	1	2,54	0,2101	0,6514	
ABC	38,44	3	12,81	1,06	0,3865	
Artık	253,51	21	12,07			
Uyum Eksikliği	253,51	17	14,91			
Hata	0,0000	4	0,0000			
Düzeltilmiş Toplam	40469,40	38				
Standart Sapma	3,47					
R²	0,9937					
Ayarlanmış R²	0,9887					

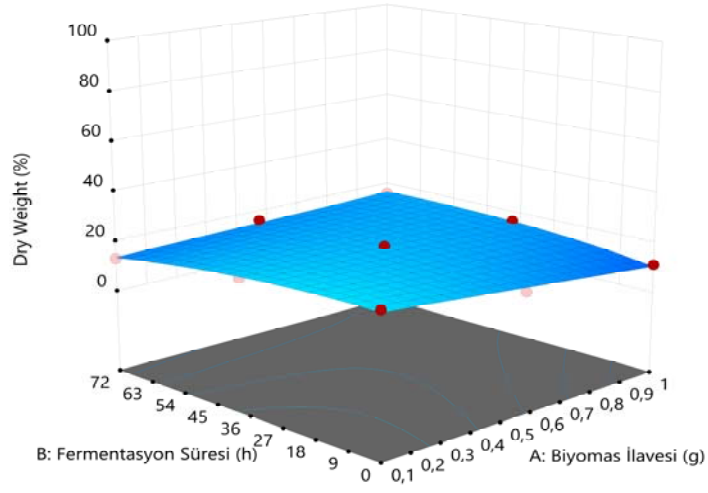
Çizelge 4.5.'de kuru ağırlık değişimine ait istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 195,96 olarak gösterilmiştir ve model istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. Çizelgeden görüldüğü üzere; C, AC faktörleri model için önemli bulunmuştur. İşlem parametrelerinin *Lactobacillus acidophilus* gelişiminde kuru ağırlık değişimine etkisi ise Şekil 4.5., 4.6., 4.7. ve 4.8.'de verilmiştir.



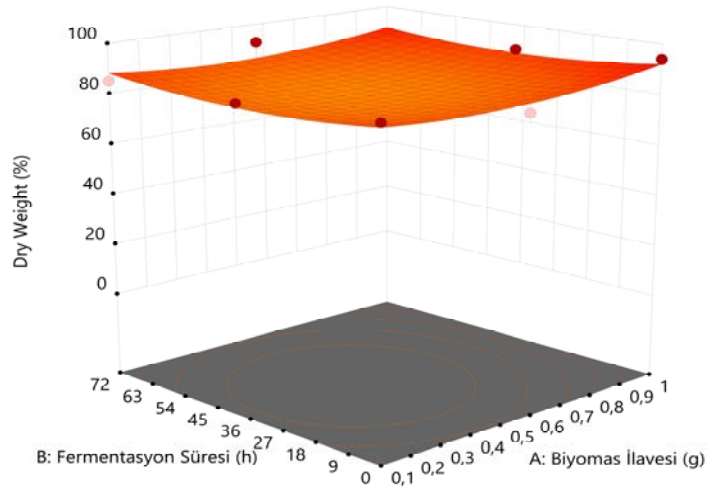
Şekil 4.5. İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un kuru ağırlık değişimine etkisi



Şekil 4.6. İşlem parametreleri ve saf su+ısl işlem ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un kuru ağırlık değişimine etkisi



Şekil 4.7. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un kuru ağırlık değişimine etkisi



Şekil 4.8 İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un kuru ağırlık değişimine etkisi

Niccolai vd. (2020) soya fasulyesi ieeğinin *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 8014 (LAB8014) gelişmesi için iyi bir substrat olduğunu ifade etmişlerdir (48 saat inkübasyon sonunda mikroorganizma sayısı Soya+LAB8014 brothlu ieeği için 7,5 log CFU mL⁻¹). *A. platensis* F&M-C256 ise LAB8014 gelişimi için daha da iyi bir substrat olarak gözlenmiştir (48 saat sonunda Su+Spirulina+LAB8014 broth için 10,5 log CFU mL⁻¹ iken Su+Spirulina için 9,2 log CFU mL⁻¹). Bununla birlikte, LAB8014 gelişmesi için optimal substrat Soya+Spirulina ve maksimum LAB8014 gelişimi 11,7 log CFU mL⁻¹ olarak belirlenmiştir. Beklendiği gibi, LAB8014 ile aşılınmayan soya ieeğinin bakteri sayısı fermantasyonun başlangıcından (0. saat) 24. saate kadar çok düşük sayıda kalmıştır. Bakteri gelişmesi 24. saatten sonra başlamış ve 48 saat sonra 1,1±0,85 log CFU mL⁻¹'e ulaşmış ve en yüksek konsantrasyona 72 saatlik fermantasyon sonunda göstermiştir (4,8±0,13 log CFU mL⁻¹).

4.4. Optik Yoğunluk Değişimi

Çizelge 4.6. Optik Yoğunluk Değişimi deney sonuçları

Std	Run	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Optik Yoğunluk (nm)
		A: Biyomas İlavesi (g)	B: Fermantasyon Süresi (h)	C: Besiyeri Özelliği	
1	37	0,1	0	Saf Su	3,151
2	34	0,55	0	Saf Su	3,596
3	19	1	0	Saf Su	3,337
4	6	0,1	36	Saf Su	3,091
5	8	0,55	36	Saf Su	3,267
10	27	0,55	36	Saf Su	3,267
6	24	1	36	Saf Su	3,293
7	28	0,1	72	Saf Su	2,982
8	4	0,55	72	Saf Su	3,548
9	2	1	72	Saf Su	3,354
11	30	0,1	0	Isıl İşlem+Saf Su	2,44
12	29	0,55	0	Isıl İşem+Saf Su	3,288
13	23	1	0	Isıl İşem+Saf Su	3,333
14	5	0,1	36	Isıl İşem+Saf Su	3,202

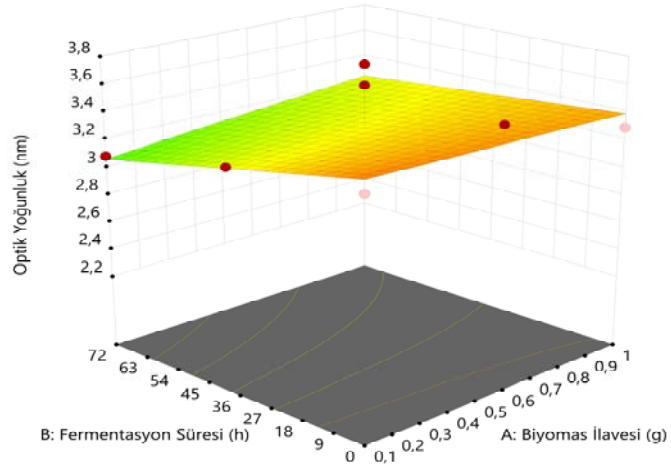
15	13	0,55	36	Isıl İşem+Saf Su	3,41
20	36	0,55	36	Isıl İşem+Saf Su	3,41
16	16	1	36	Isıl İşem+Saf Su	3,486
17	31	0,1	72	Isıl İşem+Saf Su	3,173
18	1	0,55	72	Isıl İşem+Saf Su	3,499
19	12	1	72	Isıl İşem+Saf Su	3,184
21	35	0,1	0	%2 Glikoz	2,398
22	38	0,55	0	%2 Glikoz	2,444
23	21	1	0	%2 Glikoz	2,475
24	39	0,1	36	%2 Glikoz	2,358
30	3	0,55	36	%2 Glikoz	2,478
25	15	0,55	36	%2 Glikoz	2,478
26	18	1	36	%2 Glikoz	2,471
27	14	0,1	72	%2 Glikoz	2,31
28	22	0,55	72	%2 Glikoz	2,44
29	10	1	72	%2 Glikoz	2,419
31	20	0,1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,11
32	9	0,55	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,557
33	25	1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,609
34	17	0,1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,211
40	7	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,279
35	11	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,279
36	33	1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,308
37	26	0,1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	2,87
38	40	0,55	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,273
39	32	1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	3,421

Çizelge 4.6.'da verilen değerler incelendiğinde ısıtıl işlem görmüş %2 glikoz + *Spirulina* içeren besin ortamında fermantasyon süresine ve *Spirulina* miktarına paralel bir artış olduğu görülmektedir. Diğer koşullardaki besin ortamlarına bakıldığında 0,55 gr *Spirulina* içeren örneklerde optik yoğunlukta bir artış olduğu söylenebilmektedir. Ancak optik yoğunluğu en fazla etkileyen faktörün ısıtıl işlem görmüş %2 glikoz içeren ortam olduğu söylenebilmektedir.

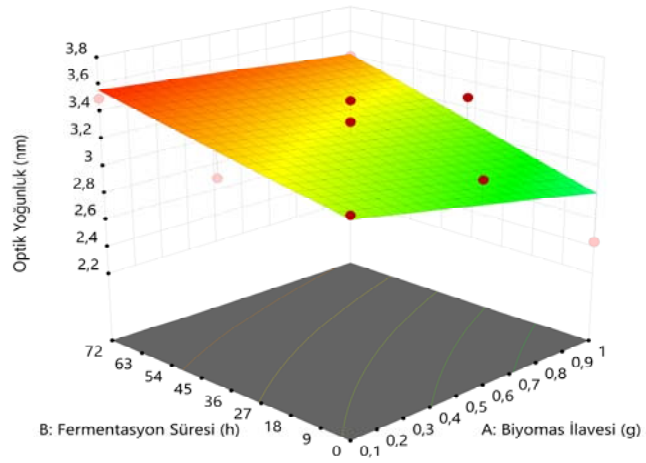
Çizelge 4.7. Optik yoğunluk değişimine ait ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	6,33	12	0,5278	21,37	< 0.0001	Önemli
A- Besiyeri Özelliği	0,0241	1	0,0241	0,9747	0,3323	
B- Biyomas İlavesi	0,1130	1	0,1130	4,58	0,0416	Önemli
C- Fermentasyon Zamanı	5,40	3	1,80	72,87	< 0.0001	
AB	0,0522	1	0,0522	2,11	0,1574	Önemli
AC	0,2881	3	0,0960	3,89	0,0197	
BC	0,4580	3	0,1527	6,18	0,0024	Önemli
Artık	0,6667	27	0,0247			
Uyum Eksikliği	0,5164	23	0,0225	0,5978	0,8095	Önemsiz
Hata	0,1502	4	0,0376			
Düzeltilmiş Toplam	7,00	39				
Standart Sapma	0,1571					
R²	0,9048					
Ayarlanmış R²	0,8624					

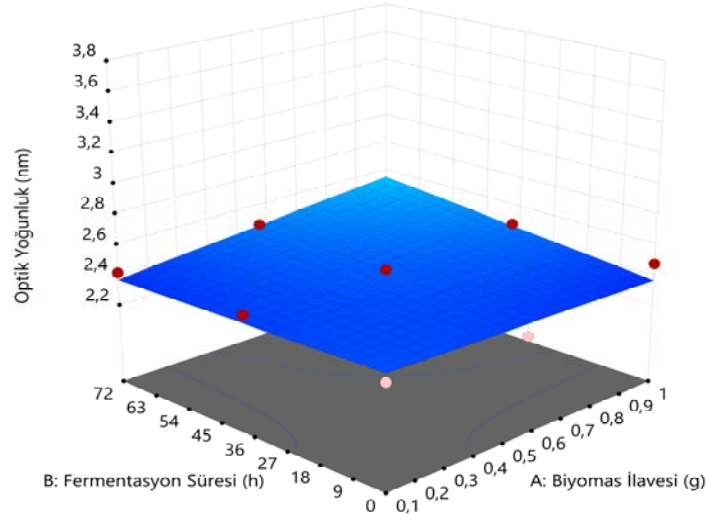
Çizelge 4.7.'de optik yoğunluk değişimine ait istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 21,37 olarak gösterilmiştir ve model istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. Çizelgeden görüldüğü üzere; B, C, AC, BC faktörleri model için önemli bulunmuştur. Uyum eksikliği F değeri 0,60 değeri ile istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Modele ait p değerinin önemli, ancak uyum eksikliği F değerinin önemsiz bulunması modelin doğruluğunun bir ispatı olarak belirtilebilmektedir. İşlem parametrelerinin *Lactobacillus acidophilus* gelişiminde kuru ağırlık değişimine etkisi ise Şekil 4.9., 4.10., 4.11. ve 4.12.'de verilmiştir



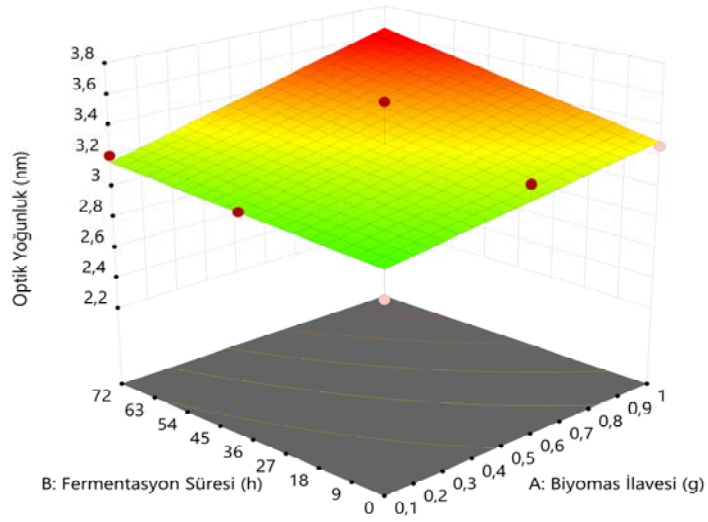
Şekil 4.9. İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'ün optik yoğunluk değişimine etkisi



Şekil 4.10. İşlem parametreleri ve saf su+ısl işlem ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'ün optik yoğunluk değişimine etkisi



Şekil 4.11. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un optik yoğunluk değişimine etkisi



Şekil 4.12. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz+ısıtılmış ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un optik yoğunluk değişimine etkisi

Teksoy (2020)'nin kavun ve karpuz çekirdeklerinin farklı mikroorganizmaların gelişmesi üzerine etkilerini araştırdığı çalışmasında, farklı karbonhidrat kaynakları içeren besi ortamlarında fermantasyon süresince *Lb. acidophilus*'un optik yoğunluk değerlerinin 0.002 (fermantasyonun 0. saati inulin içeren örnek) -2.069 (fermantasyonun 48. saati glikoz içeren örnek) arasında değiştiğini saptamıştır.

4.5. *Lb. acidophilus* Sayısındaki Değişim

Çizelge 4.8. *Lb. acidophilus* (LA) sayısındaki değişim deney sonuçları

Std	Run	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	LA sayısı
		A: Biyomas İlavesi (g)	B: Fermantasyon Süresi (h)	C: Besiyeri Özelliği	
1	37	0,1	0	Saf Su	147
2	34	0,55	0	Saf Su	21
3	19	1	0	Saf Su	97
4	6	0,1	36	Saf Su	100
5	8	0,55	36	Saf Su	218
10	27	0,55	36	Saf Su	218
6	24	1	36	Saf Su	185
7	28	0,1	72	Saf Su	80
8	4	0,55	72	Saf Su	79
9	2	1	72	Saf Su	149
11	30	0,1	0	Isıl İşlem+Saf Su	10
12	29	0,55	0	Isıl İşem+Saf Su	13
13	23	1	0	Isıl İşem+Saf Su	3
14	5	0,1	36	Isıl İşem+Saf Su	87
15	13	0,55	36	Isıl İşem+Saf Su	100
20	36	0,55	36	Isıl İşem+Saf Su	100
16	16	1	36	Isıl İşem+Saf Su	58
17	31	0,1	72	Isıl İşem+Saf Su	83
18	1	0,55	72	Isıl İşem+Saf Su	310
19	12	1	72	Isıl İşem+Saf Su	132
21	35	0,1	0	%2 Glikoz	122
22	38	0,55	0	%2 Glikoz	78
23	21	1	0	%2 Glikoz	335
24	39	0,1	36	%2 Glikoz	210

30	3	0,55	36	%2 Glikoz	785
25	15	0,55	36	%2 Glikoz	785
26	18	1	36	%2 Glikoz	1160
27	14	0,1	72	%2 Glikoz	272
28	22	0,55	72	%2 Glikoz	360
29	10	1	72	%2 Glikoz	570
31	20	0,1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	31
32	9	0,55	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	33
33	25	1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	42
34	17	0,1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	285
40	7	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	1185
35	11	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	1185
36	33	1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	580
37	26	0,1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	185
38	40	0,55	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	585
39	32	1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	845

Çizelge 4.8.'de verilen değerler incelendiğinde, en yüksek *Lb. acidophilus* sayısının ısı işlem görmüş %2 glikoz + 0,55 gr *Spirulina* içeren besin ortamında fermantasyonun 36. saatinde olduğu görülmektedir. Glikoz içeren ortamlarda saf su içeren ortamlara oranla gelişimin daha fazla ve düzenli bir artış gösterdiği söylenebilmektedir. Bu veriler üzerinden bakıldığında ısı işlem uygulaması ve glikoz ilavesinin *Spirulina* besin ortamında *Lb. acidophilus* için en uygun gelişme ortamını sağladığı söylenebilmektedir.

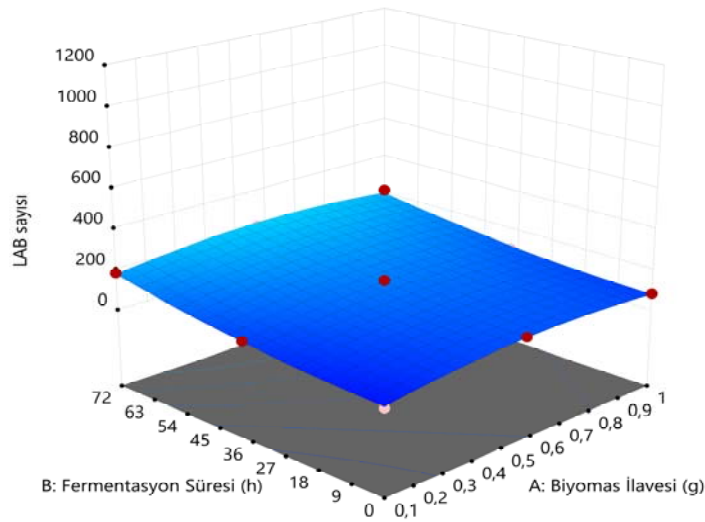
Çizelge 4.9. *Lb. acidophilus* sayımına ait ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	3,236E+06	23	1,407E+05	122,10	< 0.0001	önemli
A-Biyomas İlavesi	2,414E+05	1	2,414E+05	209,51	< 0.0001	önemli
B-Fermentasyon Süresi	2,989E+05	1	2,989E+05	259,40	< 0.0001	önemli
C-Besiyeri Özelliği	1,131E+06	3	3,772E+05	327,35	< 0.0001	
AB	343,85	1	343,85	0,2984	0,5935	önemli
AC	1,892E+05	3	63078,35	54,75	< 0.0001	önemli
BC	7,748E+05	3	2,583E+05	224,17	< 0.0001	
A ²	4643,13	1	4643,13	4,03	0,0644	önemli
B ²	68175,47	1	68175,47	59,17	< 0.0001	önemli
ABC	78795,51	3	26265,17	22,80	< 0.0001	

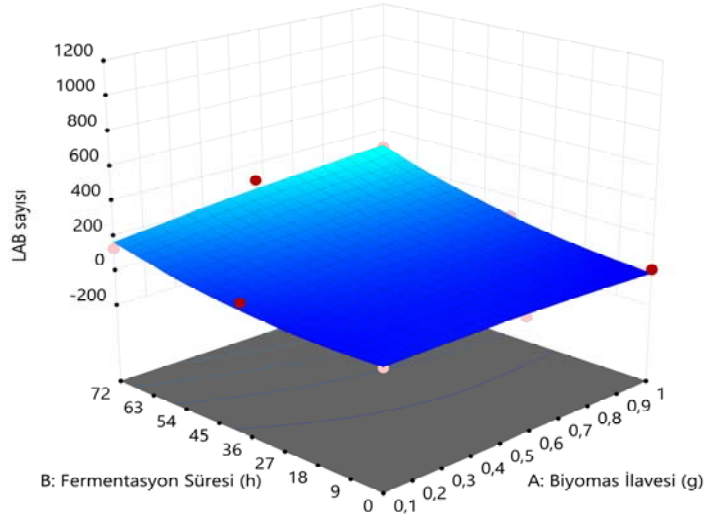
A ² C	1,698E+05	3	56594,35	49,12	< 0.0001	önemli
B ² C	22845,14	3	7615,05	6,61	0,0052	önemli
Artık	16129,96	14	1152,14			
Uyum Eksikliği	14230,96	10	1423,10	3,00	0,1508	önemsiz
Hata	1899,00	4	474,75			
Düzeltilmiş Toplam	3,252E+06	37				
Standart Sapma	33,94					
R²	0,9950					
Ayarlanmış R²	0,9869					

Çizelge 4.9'de *Lb. acidophilus* sayımına ait istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 122,10 olarak gösterilmiştir ve model istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. Çizelgeden görüldüğü üzere A, B, C, AC, BC, B², ABC, A²C, B²C faktörleri model için önemli bulunmuştur. Uyum eksikliği F değeri 3,0 değeri ile istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Modele ait p değerinin önemli, ancak uyum eksikliği F değerinin önemsiz bulunması modelin doğruluğunun bir ispatı olarak belirtilebilmektedir. İşlem parametrelerinin *Lactobacillus acidophilus* sayısının değişimine etkisi ise Şekil 4.13., 4.14., 4.15. ve 4.16.'da verilmiştir

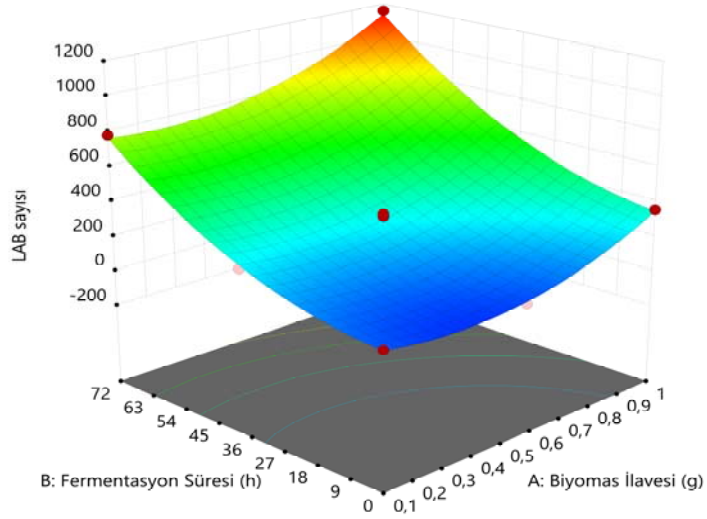
11



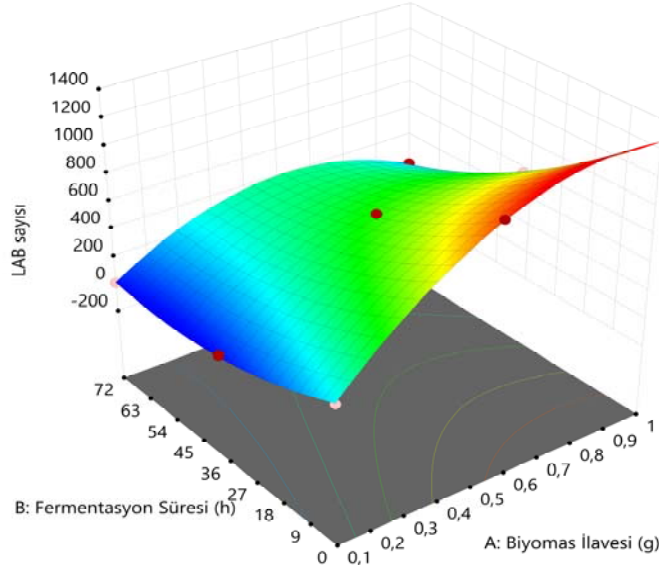
Şekil 4.13. İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un sayısının değişimine etkisi



Şekil 4.14. İşlem parametreleri ve saf su+ısl işlem ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un sayısının değişimine etkisi



Şekil 4.15. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un sayısının değişimine etkisi



Şekil 4.16. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz+ısıt işlem ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un sayısının değişimine etkisi

Güldas ve İrkin (2010) yaptıkları çalışmada, kontrol grubunda depolama süresince *Lactobacillus acidophilus* sayısında ciddi azalmalar görülürken *Spirulina platensis* ilaveli yoğurt örneklerinde düşüşlerin daha az olduğunu tespit etmişlerdir. Yoğurt örnekleriyle yapılan başka bir çalışmada *Spirulina platensis* ilave edilen yoğurt gruplarının *Lactobacillus acidophilus* miktarının kontrol örneklerinden fazla olduğu görülmüştür (Agustini vd. 2017). Bu çalışmaların aksine Beheshtipour vd. (2012)'nin yaptığı çalışmada ise *Lb. acidophilus* değerleri depolama süresince azalma göstermiştir.

Kandil (2019) yaptığı çalışmada fermentasyon süresince farklı substrat kaynağı içeren besi ortamlarındaki *B. lactis* ve *Lb. casei*'ye ait mikroorganizma sayılarını (\log_{10} kob/mL) bildirmiştir. Her iki bakteri türünde de ksantan gam oranı arttıkça mikroorganizma sayısının logaritmik olarak arttığı, tüm besi ortamlarında *Lb. casei* (en yüksek 9,10, en düşük 7,38) türünün *B. lactis*'e (en yüksek 8,58, en düşük 6,39) göre daha iyi gelişim gösterdiğini belirtmiştir.

4.6. Antioksidan Kapasite ve Toplam Fenolik Madde Değişimi

Antioksidanlar, az miktarlarda kolaylıkla okside olabilen materyallerin oksidasyonunu büyük ölçüde geciktiren ya da engelleyen maddeler olarak tanımlanabilmektedir (MacDonald-Wicks vd.). Hücrelerin deforme olmasına neden olan oksijene ve vücutta bulunan zararlı maddelere karşı koruyucu etki gösteren antioksidan bileşikler, oksidasyonu önleme yetenekleri sayesinde antibakteriyel, antikanserojen ve kalp-damar sağlığına karşı koruyucu olarak rol almaktadır (Aksay 2016, Suna 2020).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar gıdaların besleyici değerleri dışında insan sağlığına yararlı etkileri olduğunu göstermektedir. Özellikle vitamin C, vitamin E, β -karoten gibi antioksidanları fazla bulunduran gıdalar daha fazla ilgi görmektedir. Bu nedenle gıda alanında birçok molekülün antioksidan kapasitelerinin çalışılması önem kazanmıştır. Mikroalgler içerdikleri fenolikler, karotenoidler ve vitaminler gibi antioksidan bileşikler nedeni ile çalışmaları önem kazanan alanlardandır (Albayrak vd. 2010).

Çizelge 4.10. Antioksidan Kapasite ve Toplam Fenolik Madde Değişimi deney sonuçları

Std	Run	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Toplam Fenolik Madde	CUPRAC	DPPH
		A: Biyomas İlavesi (gr)	B: Fermantasyon Süresi (h)	C: Besiyeri Özelliği			
1	37	0,1	0	Saf Su	1,69	16,0249	11,1502
2	34	0,55	0	Saf Su	3,62	1,73327	9,51493
3	19	1	0	Saf Su	1,37	17,2666	11,3582
4	6	0,1	36	Saf Su	4,59	8,1791	9,74883
5	8	0,55	36	Saf Su	4,5909	7,6416	9,65359
10	27	0,55	36	Saf Su	4,59	1,52494	9,55181
6	24	1	36	Saf Su	25,4	1,69994	9,55369
7	28	0,1	72	Saf Su	0,94	8,5416	9,83582
8	4	0,55	72	Saf Su	12,42	16,9549	12,3836
9	2	1	72	Saf Su	22,18	7,6416	9,65359
11	30	0,1	0	Isıl İşlem+Saf Su	1,48	4,16244	9,68071
12	29	0,55	0	Isıl İşem+Saf Su	10,3831	6,7541	9,61663
13	23	1	0	Isıl İşem+Saf Su	5,98533	6,55827	9,68928
14	5	0,1	36	Isıl İşem+Saf Su	0,943922	1,06244	9,57123
15	13	0,55	36	Isıl İşem+Saf Su	13,0647	6,93327	9,75916
20	36	0,55	36	Isıl İşem+Saf Su	18,6425	10,7708	10,3057
16	16	1	36	Isıl İşem+Saf Su	1,26571	0,89577	9,5633
17	31	0,1	72	Isıl İşem+Saf Su	22,8258	12,7958	11,6507
18	1	0,55	72	Isıl İşem+Saf Su	1,48024	0,841603	9,58144
19	12	1	72	Isıl İşem+Saf Su	5,98533	6,55827	9,68928
21	35	0,1	0	%2 Glikoz	1,9093	1,97494	9,60074
22	38	0,55	0	%2 Glikoz	11,2413	9,72494	10,4151
23	21	1	0	%2 Glikoz	17,4626	10,0666	9,81527
24	39	0,1	36	%2 Glikoz	3,0892	2,35827	9,61663
30	3	0,55	36	%2 Glikoz	24,3275	16,4916	15,9224
25	15	0,55	36	%2 Glikoz	2,76741	1,8791	9,6052
26	18	1	36	%2 Glikoz	10,7049	6,03744	9,6696
27	14	0,1	72	%2 Glikoz	10,2759	6,13744	9,65884
28	22	0,55	72	%2 Glikoz	10,2759	6,13744	9,65884
29	10	1	72	%2 Glikoz	18,5352	10,7541	9,87548
31	20	0,1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	11,9921	4,8166	9,71319
32	9	0,55	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	16,9262	10,0124	9,8848
33	25	1	0	Isıl İşlem+%2 Glikoz	15,6391	4,8416	9,68354
34	17	0,1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	8,77419	2,03327	9,55559
40	7	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	15,6391	4,8416	9,68354

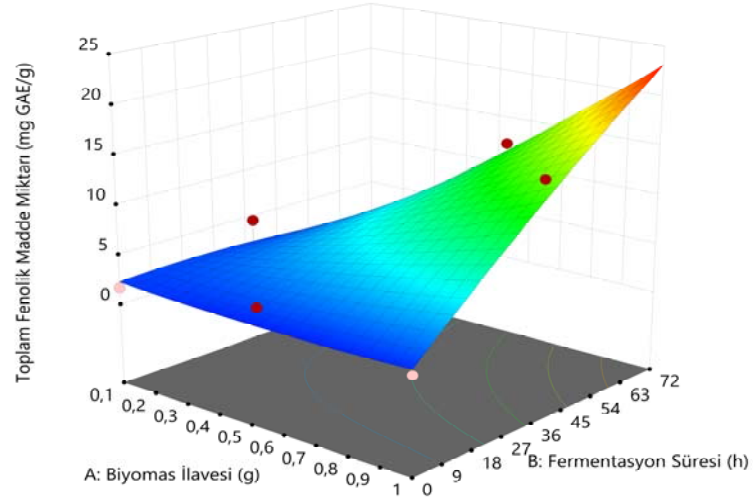
35	11	0,55	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	10,5977	4,73744	9,67511
36	33	1	36	Isıl İşlem+%2 Glikoz	19,9296	7,51244	9,96697
37	26	0,1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	5,12721	1,6666	9,55942
38	40	0,55	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	23,3621	13,9624	10,3057
39	32	1	72	Isıl İşlem+%2 Glikoz	4,80542	1,63744	9,56923

Çizelge 4.10.'da Antioksidan Kapasite ve Toplam Fenolik Madde Değişimi deney sonuçları verilmiştir. Toplam Fenolik Madde Değişimi sonuçlarına baktığımızda olumlu yönde değişimlerin ısıtma işlem uygulanmış besiyeri özelliğinde görüldüğünü söylemek mümkündür. DPPH ile antioksidan tayini sonuçlarında, genel olarak çok büyük farklılıklar olmamakla birlikte en olumlu artışların 0,55 gr biyomas ilavesi içeren örneklerde olduğu görülmüştür. Sonuçların besiyeri özelliğinden çok biyomas miktarı ile değiştiği görülmüştür. CUPRAC ile antioksidan tayini sonuçlarında, besiyeri özelliğinden bağımsız olarak sonuçların biyomas ilavesi ve fermentasyon süresi ile daha anlamlı değişimler gösterdiği söylenebilmektedir.

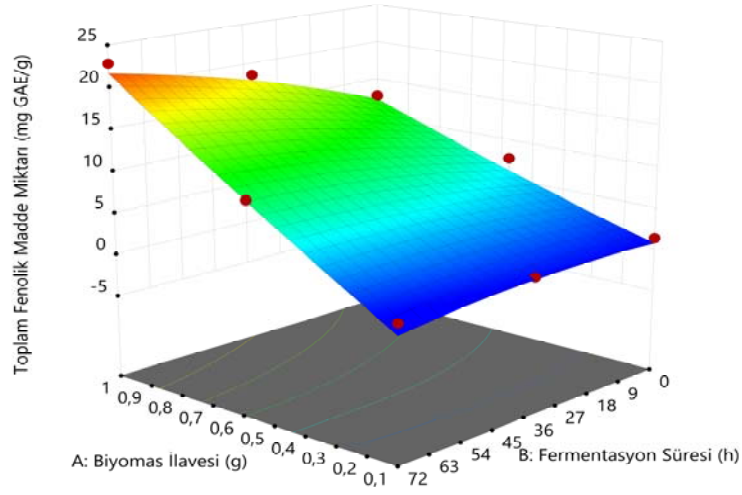
Çizelge 4.11. Toplam fenolik madde miktarındaki değişime ait ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	1555,64	17	91,51	17,01	< 0.0001	önemli
A- Biyomas İlavesi	995,33	1	995,33	185,06	< 0.0001	önemli
B- Fermentasyon Zamanı	27,48	1	27,48	5,11	0,0345	önemli
C- Besiyeri Özelliği	230,10	3	76,70	14,26	< 0.0001	önemli
AB	34,72	1	34,72	6,46	0,0190	
AC	47,27	3	15,76	2,93	0,0574	önemli
BC	70,85	3	23,62	4,39	0,0151	
A ²	1,29	1	1,29	0,2399	0,6293	
B ²	5,15	1	5,15	0,9574	0,3390	
ABC	77,70	3	25,90	4,82	0,0105	önemli
Artık	112,95	21	5,38			
Uyum Eksikliği	103,74	17	6,10	2,65	0,1783	önemsiz
Hata	9,21	4	2,30			
Düzeltilmiş Toplam	1668,59	38				
Standart Sapma	2,32					
R²	0,9323					
Ayarlanmış R²	0,8775					

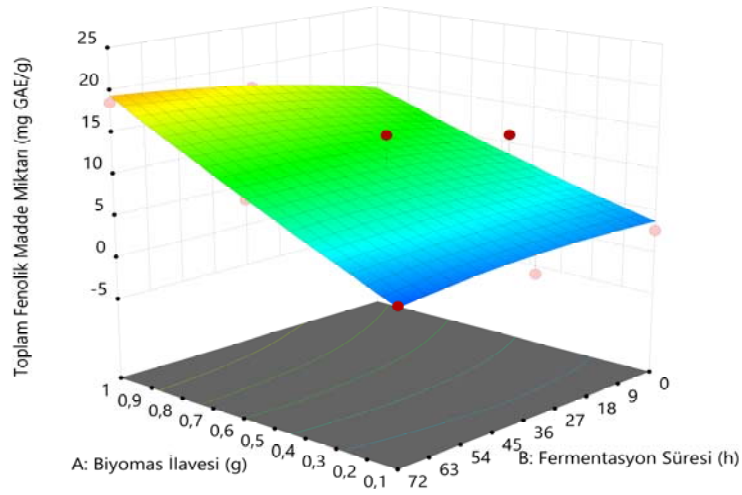
Çizelge 4.11.'de toplam feolik madde değişimine ait istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 17,01 olarak gösterilmiştir ve model istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. Çizelgeden görüldüğü üzere A, B, C, AB, BC, ABC faktörleri model için önemli bulunmuştur. Uyum eksikliği F değeri 0,1783 değeri ile istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Modele ait p değerinin önemli, ancak uyum eksikliği F değerinin önemsiz bulunması modelin doğruluğunun bir ispatı olarak belirtilebilmektedir. İşlem parametrelerinin toplam fenolik madde değişimine etkisi ise Şekil 4.17., 4.18., 4.19. ve 4.20.'de verilmiştir.



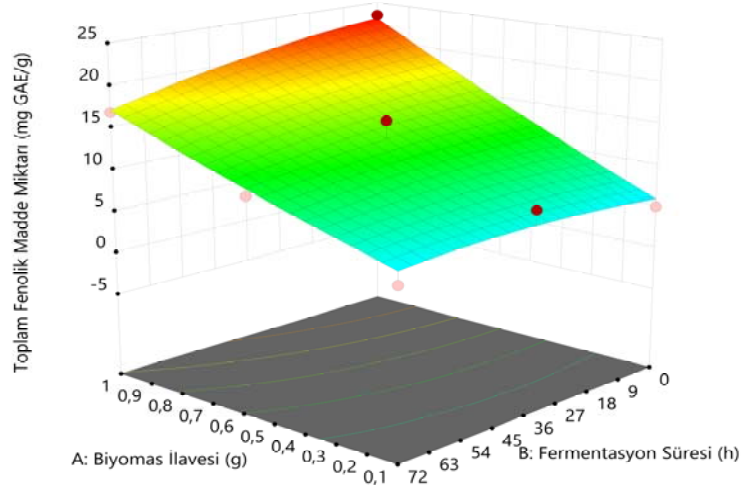
Şekil 4.17. İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus* 'un toplam fenolik madde değişimine etkisi



Şekil 4.18. İşlem parametreleri ve saf su+ısıtılmış ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un toplam fenolik madde değişimine etkisi



Şekil 4.19. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un toplam fenolik madde değişimine etkisi



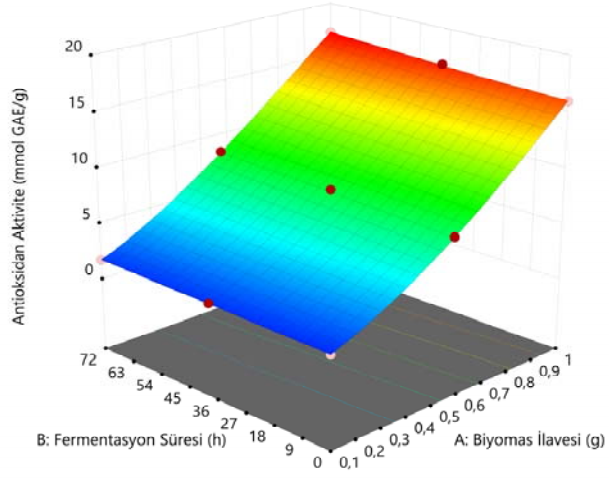
Şekil 4.20. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz+ıslı işlem ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un toplam fenolik madde değişimine etkisi

Çizelge 4.12. CUPRAC analizi için ANOVA sonuçları

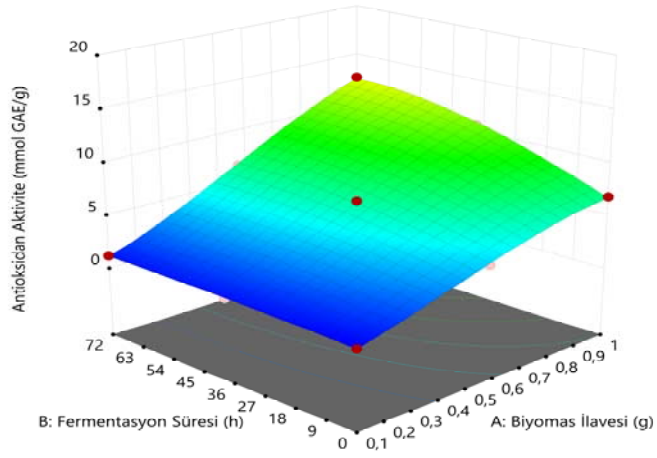
	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	34,67	32	1,08	289,57	< 0.0001	önemli
A- Biyomas İlavesi	29,75	1	29,75	7950,70	< 0.0001	önemli
B-Fermentasyon Zamanı	1,03	1	1,03	276,04	< 0.0001	önemli
C-Besiyeri Özelliği	1,81	3	0,6027	161,06	< 0.0001	önemli
AB	0,3582	1	0,3582	95,72	< 0.0001	önemli
AC	0,7063	3	0,2354	62,92	< 0.0001	önemli
BC	0,1804	3	0,0601	16,07	0,0016	önemli
A ²	0,2076	1	0,2076	55,47	0,0001	önemli
B ²	0,0088	1	0,0088	2,35	0,1694	
ABC	0,0955	3	0,0318	8,51	0,0098	önemli
A ² B	0,0089	1	0,0089	2,37	0,1673	
A ² C	0,1768	3	0,0589	15,75	0,0017	önemli
AB ²	0,0021	1	0,0021	0,5540	0,4809	
B ² C	0,1880	3	0,0627	16,74	0,0014	önemli

A ³	0,0000	0				
B ³	0,0000	0				
A ² B ²	0,0002	1	0,0002	0,0464	0,8356	
A ² BC	0,0950	3	0,0317	8,46	0,0100	önemli
AB ² C	0,0314	3	0,0105	2,80	0,1185	
Artık	0,0262	7	0,0037			
Uyum Eksikliği	0,0217	3	0,0072	6,52	0,0508	önemsiz
Hata	0,0044	4	0,0011			
Düzeltilmiş Toplam	34,70	39				
Standart Sapma	0,0612					
R²	0,9992					
Ayarlanmış R²	0,9958					

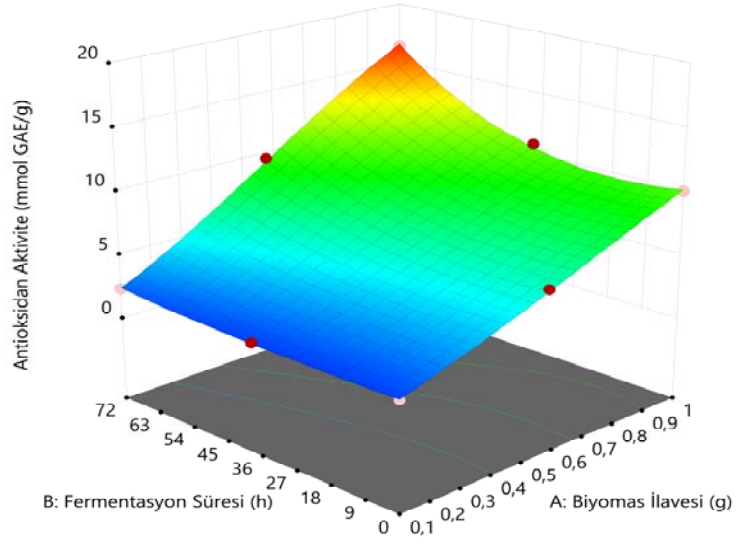
Çizelge 4.12.'da CUPRAC analizine ait istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 289,57 olarak gösterilmiştir ve model istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. Çizelgeden görüldüğü üzere A, B, C, AB, AC, BC, A², ABC, A²C, B²C, A²BC faktörleri model için önemli bulunmuştur. Uyum eksikliği F değeri 6,52 değeri ile istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Modele ait p değerinin önemli, ancak uyum eksikliği F değerinin önemsiz bulunması modelin doğruluğunun bir ispatı olarak belirtilebilmektedir. İşlem parametrelerinin CUPRAC metodu ile antioksidan kapasite değişimine etkisi ise Şekil 4.21., 4.22., 4.23. ve 4.24.'de verilmiştir.



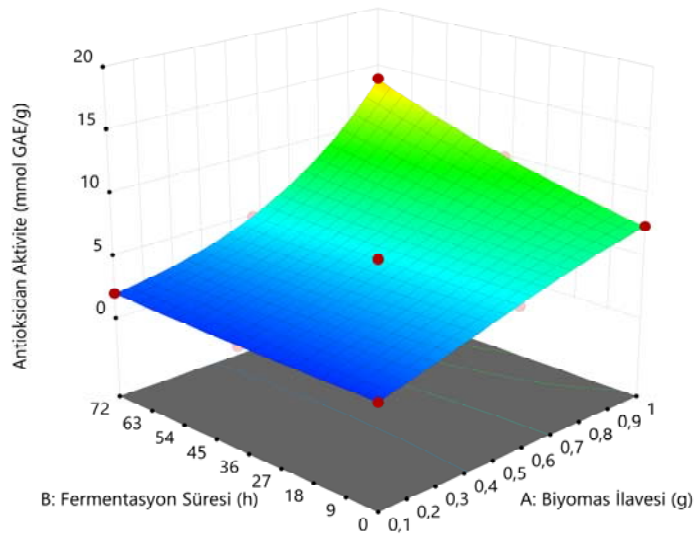
Şekil 4.21. İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'ün CUPRAC antioksidan kapasitesi üzerine etkisi



Şekil 4.22. İşlem parametreleri ve saf su+ısıl işlem ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'ün CUPRAC antioksidan kapasitesi üzerine etkisi



Şekil 4.23. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un CUPRAC antioksidan kapasitesi üzerine etkisi

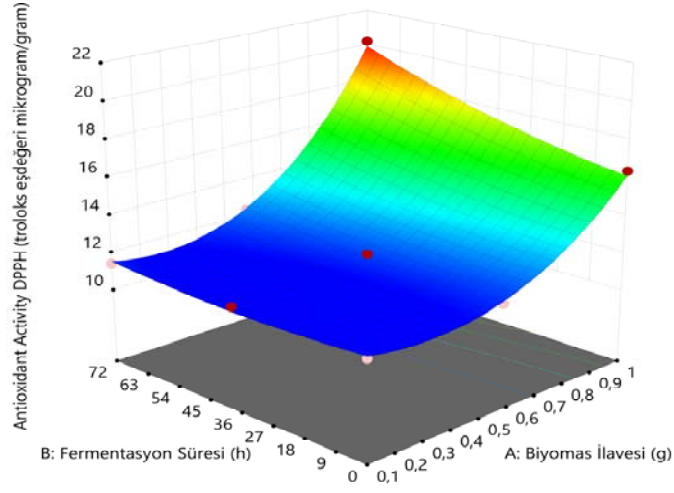


Şekil 4.24. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz+ıslı işlem ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un CUPRAC antioksidan kapasitesi üzerine etkisi

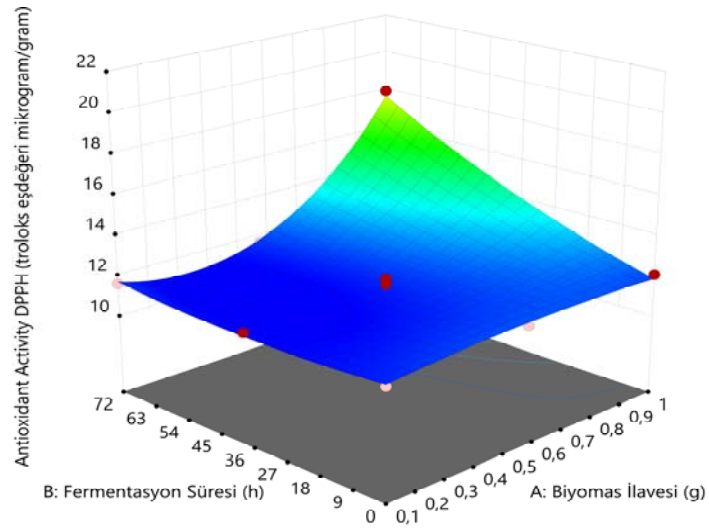
Çizelge 4.13.'de DPPH analizine ait istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 32,97 olarak gösterilmiştir ve model istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. Çizelgeden görüldüğü üzere A, B, C, AB, AC, BC, A², B², ABC, A²B, A²C, A²BC faktörleri model için önemli bulunmuştur. Uyum eksikliği F değeri 7,55 değeri ile istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Modele ait p değerinin önemli, ancak uyum eksikliği F değerinin önemsiz bulunması modelin doğruluğunun bir ispatı olarak belirtilebilmektedir. İşlem parametrelerinin DPPH metodu ile antioksidan kapasite değişimine etkisi ise Şekil 4.25., 4.26., 4.27. ve 4.28.'de verilmiştir.

Çizelge 4.13. DPPH analizi için ANOVA sonuçları

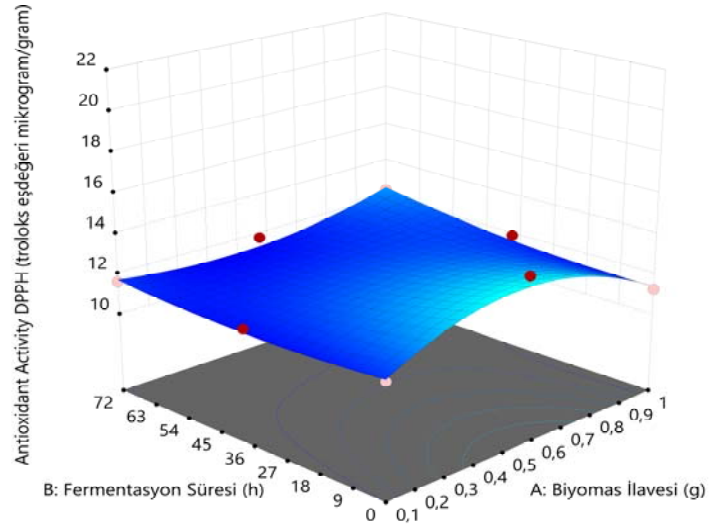
	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri p-değeri		
Model	2,55	24	0,1064	32,97	< 0.0001	önemli
A- Biyomas İlavesi	0,8622	1	0,8622	267,12	< 0.0001	önemli
B- Fermentasyon Süresi	0,0399	1	0,0399	12,35	0,0034	önemli
C- Besiyeri Özelliği	0,2788	3	0,0929	28,79	< 0.0001	önemli
AB	0,0821	1	0,0821	25,45	0,0002	önemli
AC	0,5489	3	0,1830	56,69	< 0.0001	önemli
BC	0,1190	3	0,0397	12,29	0,0003	önemli
A ²	0,1094	1	0,1094	33,88	< 0.0001	önemli
B ²	0,0205	1	0,0205	6,35	0,0245	önemli
ABC	0,1175	3	0,0392	12,14	0,0003	önemli
A ² B	0,0654	1	0,0654	20,28	0,0005	önemli
A ² C	0,2190	3	0,0730	22,61	< 0.0001	önemli
A ² BC	0,0571	3	0,0190	5,90	0,0081	önemli
Artık	0,0452	14	0,0032			
Uyum Eksikliği	0,0436	11	0,0040	7,55	0,0613	önemsiz
Hata	0,0016	3	0,0005			
Düzeltilmiş Toplam	2,60	38				
Standart Sapma	0,0568					
R²	0,9826					
Ayarlanmış R²	0,9528					



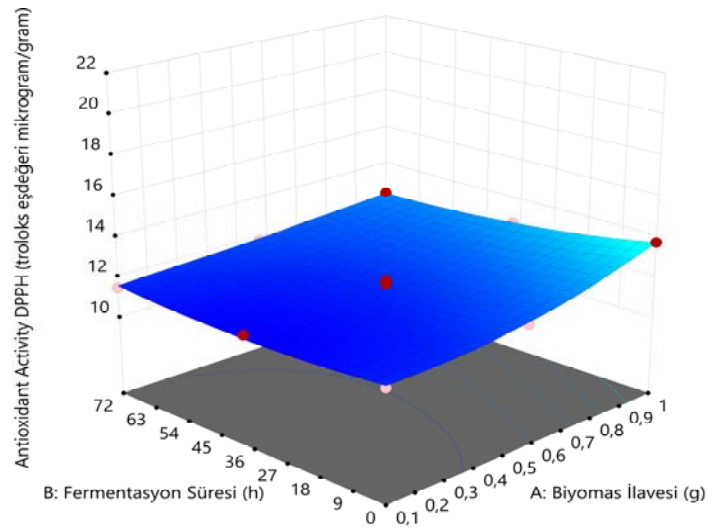
Şekil 4.25. İşlem parametreleri ve saf su ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un DPPH antioksidan kapasitesi üzerine etkisi



Şekil 4.26. İşlem parametreleri ve saf su+ısıl işlem ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un DPPH antioksidan kapasitesi üzerine etkisi



Şekil 4.27. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un DPPH antioksidan kapasitesi üzerine etkisi



Şekil 4.28. İşlem parametreleri ve %2 Glikoz+ısıtılmış ortamında gelişen *Lactobacillus acidophilus*'un DPPH antioksidan kapasitesi üzerine etkisi

Niccolai vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, *Spirulina platensis*'in probiyotik bakteri *Lactobacillus plantarum* tarafından tek substrat olarak kullanımı değerlendirilmiştir. Çalışmada toplam fenolik madde içeriği 2 günlük fermantasyondan sonra 18,9 mg GAE g⁻¹ olmuş ardından 72 saat sonunda 10,9 mg GAE g⁻¹ olarak düşüş göstermiştir.

Batista vd. (2017), kurabiyelere %2,0 ve %6,0 oranında *A. platensis*, *C. vulgaris*, *T. suecica* ve *P. tricornutum* biyokütlesi ilave etmiş ve toplam fenolik içeriklerini değerlendirmiştir. Sonuçlar, %6,0 *A. platensis* ve *P. tricornutum* ile zenginleştirilmiş kurabiyeler için fenolik içeriği daha yüksek olduğunu göstermiştir (0,90 ve 0,62 mg GAE g⁻¹, sırasıyla).

Darwish (2017), yapmış olduğu çalışmada farklı konsantrasyonlarda (%0, 0,5, 1, 1,5) *S. platensis* içeren Kareish peynirinde antioksidan miktarlarını incelemiştir. *S. platensis*'in peynirdeki konsantrasyonu arttıkça DPPH değerinde paralel olarak arttığı görülmüştür (%0 *S. platensis* içeren örnek 4,199 mg TE 100g⁻¹, %0,5 *S. platensis* içeren örnek 4,395 mg TE 100g⁻¹, %1 *S. platensis* içeren örnek 4,219 mg TE TE 100g⁻¹ ve %1,5 *S. platensis* içeren örnek 4,688 mg TE 100g⁻¹).

Şahin (2020) yaptığı çalışmada, *Spirulina platensis* ve *Dunaliella salina* ilaveli (%1 ve %2) kurabiye örneklerinin renk, sertlik, kül içeriği, protein içeriği, lipid içeriği, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite (CUPRAC) değerlendirmelerini yapmıştır. Sonuçlarında *Dunaliella salina* ile zenginleştirilmiş kurabiyelerde toplam fenolik içerik ve CUPRAC değerleri daha yüksek bulunmuştur. Kontrol örnekleri ile kıyaslandığında alglerin ilavesi ile örneklerin antioksidan kapasiteleri önemli ölçüde artmıştır. Özellikle %2 *Dunaliella salina* ilaveli örneklerde 0,50 GAE g⁻¹'den 1,76 GAE g⁻¹'e yaklaşık üç katlık bir artış görülmüştür. Duyusal değerlendirmesinde ise *Dunaliella salina* içeren örnekler renk, doku ve nem içeriği açısından *Spirulina platensis* içeren örneklere oranla tüketici tarafından daha kabul edilebilir görülmüştür.

Suna (2020) yapmış olduğu çalışmada, *S.platensis* ve *C.vulgaris* mikroalgleri ile *Lb. acidophilus* kullanarak üretilmiş beyaz peynir örneklerinin özelliklerini incelemiştir. Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince ortalama DPPH değerinin 0,146 ile 0,163

mg trolox g⁻¹ arasında bulunduğunu tespit etmiştir. Peynirin mikroalgler ile zenginleştirilmesi ile; (DPPH: 0,130-0,169 mg trolox g⁻¹, CUPRAC: 0,119-0,451 mg GAE g⁻¹) antioksidan kapasite değerlerinde artış olduğunu bildirmiştir.

5. SONUÇ

Yürütülen çalışmada, *Lactobacillus acidophilus*'un gelişme ortamına farklı konsantrasyonlarda (0,1, 0,55 g ve 1 g) ilave edilen *Spirulina platensis* biyokütlesinin prebiyotik olarak kullanım potansiyelinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Su ve glikoz ilavesiyle oluşturulan besi ortamında fermantasyon süresince (0., 36. ve 72. h) *Lb. acidophilus* gelişimi optik yoğunluk ve bakteri sayısı ile belirlenmiştir. Ayrıca, fermantasyonun toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite üzerine etkisi de incelenmiştir.

Besiyeri bileşimi ile fermantasyon süresinin pH, renk, kuru ağırlık, optik yoğunluk, *Lb. acidophilus* sayısı, fenolik madde ve antioksidan aktivite üzerinde etkisi önemli bulunmuştur. İnsan sindirim sisteminde yararlı mikroorganizmaların yaşamının devamı için asitlik artışı uygun ortam sağlamaktadır. Yapılan analizlerde en düşük pH değerlerinin %2 glikoz içeren besiyerlerinde olduğu gözlenmiştir. Bunların içinde en düşük pH değeri, ısıtılmış uygulanmamış %2 glikoz + 0,55 gr *Spirulina* içeren besin ortamında 72. saat gözlenmiştir. Besiyerine glikoz ve *Spirulina plantesis* ilavesi *Lb. acidophilus*'un gelişmesi için uygun bir ortam hazırlanması için önerilebilmektedir. Renk analizi sonuçlarına baktığımızda, ısıtılmış uygulanmamış örneklerde fermantasyon süresi ilerlediğinde düzenli bir artış görülmezken ısıtılmış uygulanmış besin ortamlarında fermantasyonun ilerleyen saatlerinde düzgün bir artış görülmüştür. Buna dayanarak ısıtılmış uygulamasının, *Spirulina plantesis* içeren ürünlerde renkte değişimler yapabileceğinden göz önünde bulundurulması gerektiği önerilebilmektedir.

En yüksek *Lb. acidophilus* sayısı ısıtılmış görmüş %2 glikoz + 0,55 gr *Spirulina platensis* içeren besi ortamında gözlenirken, besiyerine glikoz ilavesinin ve artan *Spirulina platensis* konsantrasyonunun ısıtılmış uygulanmasından bağımsız olarak gelişimi desteklediği saptanmıştır. Fermantasyon sonunda, *Lb. acidophilus* hücrelerinin kuru ağırlığının artması *Spirulina plantesis*'in *Lb. acidophilus*'un gelişmesi için uygun bir substrat olduğunu göstermiştir. Laktik asit fermantasyonunu takiben fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitenin artış göstermesi de *Spirulina plantesis*'in matrisine dahil edilerek prebiyotik özelliğinin olumlu yönde etkilendiğini ve yenilikçi fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesi amacıyla prebiyotik olarak değerlendirilebileceğini işaret etmiştir.

Genel olarak bakıldığında ısıt işlem, *Spirulina plantesis* ve glikoz ilavesinin *Lb. Acidophilus* gelişimini olumlu yönde etkilediği ve artan dünya ihtiyaçları göz önüne alındığında fonksiyonel ürün geliştirilmesinde fayda sağlayabilecekleri söylenebilmektedir. *Spirulina platensis*'in protein, esansiyel amino asitler ve yağ asitleri, vitaminler, fenolik bileşikler ve pigmentler gibi insan beslenmesinde ve gıda endüstrisinde değerli olan metabolitleri sentezlemesi ve laktik fermantasyonda bu biyoaktif bileşenleri nedeniyle iyi bir substrat olması baz alınarak ileride yapılacak araştırmalarda hedeflenen fonksiyonel özelliklere göre zenginleştirilmiş sinbiyotik ürünlerin üretimi üzerinde çalışılmaların yoğunlaşması gerekliliği de ortaya çıkmıştır.

KAYNAKLAR

- Agustini, T.W., Ma'ruf, W.F., Widayat, Suzery, M., Hadiyanto, Benjakul, S. (2016). Application of *Spirulina platensis* on ice cream and soft cheese with respect to their nutritional and sensory perspective. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)* 78(4-2), 245-251.
- Ahlberg, S.H., Joutsjoki, V., Korhonen, H.J. (2015). Potential of lactic acid bacteria in aflatoxin risk mitigation. *International Journal of Food Microbiology*, 207, 87-102.
- Akça, S.S. (2020). Probiyotik yoğurtların kalite özellikleri üzerine *Spirulina platensis*'in etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hayvansal Ürünler Hijyen ve Teknolojisi (Disiplinlerarası) Anabilim Dalı, Burdur.
- Aksay, S., (2016). Total phenolic content and antioxidant properties of various extracts of Myrtle Berries (*Myrtus communis* L.). *Çukurova Tarım Gıda Bilimleri Dergisi*, 31(2), 43-50.
- Aktar, S., Cebe, G.E. (2010). Alglerin genel özellikleri, kullanım alanları ve eczacılıktaki önemi. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 39(3), 237-264.
- Akyıl, S., İlter, I., Koç, M., Kaymak-Ertekin, F. (2016). Alglerden elde edilen yüksek değerlikli bileşiklerin biyoaktif/biyolojik uygulama alanları. *Akademik Gıda*, 14(4), 418-423.
- Alajil Alslibi, Z. (2019). Influence of *Spirulina* and whey protein hydrolysate on growth rate and activity of some probiotic bacteria in ayran. *Master of Science Thesis*, Gaziantep University, Graduate School of Natural Sciences, Department of Biochemistry Science and Technology, Turkey.
- Alam, K., Bin Nyeem, M.A., Mannan, A. (2019). *Spirulina*: a review on nutraceutical value and health issues. *Journal of Hamdard University Bangladesh*, 5(1), 39-51.
- Albayrak, S., Sağdıç, O., Aksoy A. (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(4), 401-409.
- Al Kassaa, I., Hober, D., Chihib, N., Drider, D. (2014). Antiviral potential of lactic acid bacteria and their bacteriocins. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 6, 177-185.
- Alongi, M., Anese, M. (2021). Re-thinking functional food development through holistic approach. *Journal of Functional Foods*, 81, 104466. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104466>
- Alp, D., Ertürkmen, P. (2017). Probiyotik olarak kullanılan *Lactobacillus* spp. suşlarının kolesterol düşürücü etkileri ve olası mekanizmalar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(1), 108-113.
- Altermann, E., Russell, W.M., Azcarate-Peril, M.A., Barrangou, R., Buck, B.L., McAuliffe, O., Souther, N., Dobson, A., Doung, T., Callanan, M., Lick, S., Hamrick, A., Cano, R., Klaenhammer, T.R. (2005). Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 3906-3912.
- Alvarez-Sieiro, P., Montalbán-López, M., Mu, D., Kuipers, O.P. (2016). Bacteriocins of lactic acid bacteria: Extending the family. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 2939-2951.
- Ambati, R.R., Gokare, R. (2018). Algae as source of functional ingredients for health benefits. *Agricultural Research & Technology: Open Access Journal*, 14(2). <https://doi.org/10.19080/ARTOAJ.2018.14.5559>

- Amorim, M.L., Soares, J., Coimbra, J.S.dos R., Leite, M.de O., Albino, L.F.T., Martins, M.A. (2020). Microalgae proteins: production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 61(12):1976–2002. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1768046>
- Andrade, L.M., Andrade, C.J., Dias, M., Nascimento, C.A.O., Mendes, M.A. (2018). *Chlorella* and *Spirulina* microalgae as sources of functional foods, nutraceuticals, and food supplements: An overview. *MOJ Food Processing & Technology*, 6(2), 00144. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2018.06.00144>
- Anvar, A.A., Nowruzi, B. (2019). Bioactive properties of *Spirulina*: A review. *Microbial Bioactives*, 4(1), 134-142.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970–7981.
- Arslan, R. (2018). Gıda ve gıda katkısı olarak kullanılan *Spirulina platensis* mikroalgından elde edilen protein ve pigmentlerin biyoaktif özellikleri. *Yüksek Lisans Tezi*, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Mersin.
- Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In: *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, Eds. Salminen, S., Wright, A.V. and Ouwehand, A., 3rd Edition, Marcel Dekker, New York, pp. 1–67. <https://doi.org/10.1201/9780824752033.ch1>
- Aydemir, S. (2019). *Spirulina platensis* Katılarak üretilmiş yoğurtların özellikleri. *Yüksek Lisans Tezi*, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.
- Barka, A., Blecker, C. (2016). Microalgae as a potential source of single-cell proteins. A review. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement/Biotechnology, Agronomy, Society and Environment (BASE)*, 20(3), 427–436.
- Barkallah, M., Dammak, M., Louati, I., Hentati, F., Hadrach, B., Mechichi, T., Ayadi, M.A, Fendri, I., Attia, H., Abdelkafi, S. (2017). Effect of *Spirulina platensis* fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage. *Food Science and Technology*, 84, 323–330.
- Barkia, I., Saari, N., Manning, S. R. (2019). Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Marine Drugs*, 17(5), 304. <https://doi.org/10.3390/md17050304>
- Batista, A.P., Gouveia, L., Bandarra, N.M., Franco, J.M., Raymundo, A. (2013). Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. *Algal Research*, 2, 164–173.
- Batista, A.P., Niccolai, A., Fradinho, P., Fragoso, S., Bursic, I., Rodolfi, L., Biondi, N., Tredici, M.R., Sousa, I., Raymundo, A. (2017). Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: sensory, physical and chemical properties, antioxidant activity and in vitro digestibility. *Algal Research*, 26, 161–171.
- Beheshtipour, H., Mortazavian, A.M., Haratian, P., Darani, K.K. (2012). Effect of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. *European Food Research and Technology*, 235(4), 719–728.

- Beheshtipour, H., Mortazavian, A.M., Mohammadi, R., Sohrabvandi, S., Khosravi-Darani, K. (2013). Supplementation of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* algae into probiotic fermented milks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(2), 144-154.
- Belay, A., Ota, Y., Miyakawa, K., Shimamatsu, H. (1993). Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. *Journal of Applied Phycology*, 5, 235–241. <https://doi.org/10.1007/BF00004024>
- Bharti, N., Kaur, R., Kaur, S. (2020). Health benefits of probiotic bacteria as nutraceuticals. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 7(7), 4797–4807.
- Bhowmik, D., Dubey, J., Mehra, S. (2009). Probiotic efficiency of *Spirulina platensis* - stimulating growth of lactic acid bacteria. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 4(2), 160–163.
- Bigliardi, B., Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. *Trends. Food Science & Technology*, 31, 118–129.
- Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M.E., Tremblay, A., Ouwehand, A.C. (2020). Criteria to Qualify Microorganisms as “Probiotic” in Foods and Dietary Supplements. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1662. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01662>
- Bull, M., Plummer, S., Marchesi, J., Mahenthiralingam, E. (2013). The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: a tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success. *FEMS Microbiology Letters*, 349, 77–87.
- Butnariu, M., Sarac, I. (2019). Functional food. *International Journal of Nutrition*, 3(3), 7–16.
- Cai, B., Yi, X., Han, Q., Pan, J., Chen, H., Sun, H., Wan, P. (2022). Structural characterization of oligosaccharide from *Spirulina platensis* and its effect on the faecal microbiota *in vitro*. *Food Science and Human Wellness*, 11, 109–118. [doi:10.1016/j.fshw.2021.07.012](https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.07.012)
- Caporgno, M.P., Mathys, A. (2018). Trends in microalgae incorporation into innovative food products with potential health benefits. *Frontiers in Nutrition*, 5, 58. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00058>
- Castro, E.de M., Shannon, E., Abu-Ghannam, N. (2019). Effect of fermentation on enhancing the nutraceutical properties of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*). *Fermentation*, 5, 28. <https://doi.org/10.3390/fermentation5010028>
- Chatterjee, M. (2012). Development of *Spirulina* containing fermented symbiotic lassi. *Master of Technology Thesis*, Anand Agricultural University, Sheth M.C. College of Dairy Science, Department of Dairy Microbiology, Anand, Gujarat, India.
- Cizeikiene, D., Juodeikiene, G., Paskevicius, A., Bartkiene, E. (2013). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread. *Food Control*, 31(2), 539–545.
- Conk Dalay, M. (2013). 21. yüzyılın mavi-yeşil besini *Spirulina*. *Ege University Microalgae Culture Collection*. <https://docplayer.biz.tr/68688132-21-yuzyilin-mavi-yesil-besini-spirulina.html>
- Çelekli, A., Alslibi, Z.A., Bozkurt, H.U. (2019). Boosting effects of *Spirulina platensis*, whey protein, and probiotics on the growth of microflora and the nutritional value of ayran. *Engineering Reports*, 20(9), e12235. <https://doi.org/10.1002/eng2.12235>
- Çelekli, A., Alslibi, Z.A., Bozkurt, H.U. (2019). Influence of incorporated *Spirulina platensis* on the growth of microflora and physicochemical properties of ayran as a

- functional food. *Algal Research*, 44, 101710. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101710>
- Çon, A.H., Gökalp, H.Y. (2000). Laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal metabolitleri ve etki etkileri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 30, 180–190.
- Çölkesen Doğru, F. (2010). *Spirulina platensis*'in Cr(III) ve Zn(II) iyonlarını bağlama kapasitesinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Adana.
- Darwish, A.M.I. (2017). Physicochemical properties, bioactive compounds and antioxidant activity of Kareish cheese fortified with *Spirulina platensis*. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 12(2), 71–78.
- De Morais, M.G., Vaz, B.da S., de Morais, E.G., Costa, J.A.V. (2015). Biologically active metabolites synthesized by microalgae. *BioMed Research International*, 2015, 835761. <https://doi.org/10.1155/2015/835761>
- De Oliveira, M.A.C.L., Monteiro, M., Robbs, P., Leite, S.G.F. (1999). Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. *Aquaculture International* 7, 261–275.
- Deveci, F. (2016). Beyaz peynir üretiminde kullanılan farklı baharat türlerinin olgunlaşmaya etkilerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ordu.
- EFSA. (2018). Guidance on the characterisation of microorganisms used as feed additives or as production organisms. *EFSA Journal*, 16, 5206. <https://doi.org/>
- Ertürkmen, P. (2014). Beyaz peynir üretimi için starter kültür izolasyonu ve bu kültürlerin peynirin özellikleri üzerine etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.
- Fadaei, V., Mohamadi-Alasti, F., Khosravi-Darani, K. (2013). Influence of *Spirulina platensis* powder on the starter culture viability in probiotic yoghurt containing spinach during cold storage. *European Journal of Experimental Biology*, 3(3), 389–93.
- Falquet, J. (2017). The nutritional aspects of *Spirulina*, Antenna Technologies, http://antenna.ch/en/documents/AspectNut_UK.pdf (Erişim; 10 Nisan 2020)
- FAO/WHO. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food; London, Ontario, Canada. https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf
- Fijan, S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11, 4745–4767.
- Fithriani, D., Sinurat, E. (2019). Utilization of *Spirulina* as functional food: phytosterol and amino acid profiles study. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 278, 012028. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/278/1/012028>
- Golmakani, M.T., Soleimani-Zad, S., Alavi, N., Nasari, E., Eskandari, M.H. (2019). Effect of *Spirulina (Arthrospira platensis)* powder on probiotic bacteriologically acidified feta-type cheese. *Journal of Applied Phycology*, 31, 1085–1094.
- Gopal, P.K. (2011). Lactic Acid Bacteria - *Lactobacillus* spp.: *Lactobacillus acidophilus*. *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*. 91–95.

- Granado-Lorencio, F., Hernández-Alvarez, E. (2016). Functional foods and health effects: A nutritional biochemistry perspective. *Current Medicinal Chemistry*, 23(26), 2929–2957. <https://doi.org/10.2174/0929867323666160615105746>
- Guangchang, P., Xie, J., Chena, Q., Hu, Z. (2012). How functional foods play critical roles in human health. *Food Science and Human Wellness*, 1, 26–60.
- Guiné, R.P.F., Florença, S.G., Barroca, M.J., Anjos, O. (2020). The link between the consumer and the innovations in food product development. *Foods*, 9, 1317. <https://doi.org/10.3390/foods9091317>
- Guldas, M., Irkin, R. (2010). Influence of *Spirulina platensis* powder on the microflora of yoghurt and acidophilus milk. *Mljekarstvo*, 60(4), 237–243.
- Gupta, E. Mishra, P. (2021). Functional food with some health benefits are so called as superfood – A review. *Current Nutrition & Food Science*, 17(2), 144–166.
- Gupta, S., Gupta, C., Garg, A.P., Prakash, D. (2017). Prebiotic efficiency of blue green algae on probiotics microorganisms. *Journal of Microbiology & Experimentation*, 4(4), 11–12.
- Gur, J., Mawuntu, M., Martirosyan, D.M. (2018). FFC's advancement of functional food definition. *Functional Foods in Health and Disease*, 8, 385–397.
- Gülbandılar, A., Okur, M., Dönmez, M. (2017). Fonksiyonel gıda olarak kullanılan probiyotikler ve özellikleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 10(1), 44–47.
- Güler-Akın, M.B., Goncu, B., Akın M.S. (2018). Some Properties of bio-yogurt enriched with cellulose fiber. *Advances in Microbiology* 8, 54–64.
- Güneş, S.S. (2009). *Spirulina platensis* katkılı cilt kremlerinin geliştirilmesi ve hücre kültürleri üzerinde etkilerinin incelenmesi. *Y.Lisans Tezi*. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Bornova-İzmir.
- Hatoum, R., Labrie, S., Fliss, I. (2012). Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel applications. *Frontiers an Microbiology*, 3, 421. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00421>
- Hayek, S., Ibrahim, S. (2013). Current limitations and challenges with lactic acid bacteria: A review. *Food and Nutrition Sciences*, 4(11A), 73–87.
- Henrikson, R. (2010). *Spirulina - World Food: How this micro algae can transform your health and our planet*. CreateSpace Independent Publishing Platform, 192p.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C., Sanders, M.E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11, 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- Holzappel, W.H., Wood, B.J.B. (2014). Introduction to the LAB. In: *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*, Eds. Holzappel, W.H., Wood, B.J.B., Wiley-Blackwell, pp.1-11.
- Hu, J., Tian, X., Wei, T., Wu, H., Lu, J., Lyu, M., Wang, S., (2021). Anti-*Helicobacter pylori* activity of a lactobacillus sp. PW-7 exopolysaccharide. *Foods*, 10, 2453. <https://doi.org/10.3390/foods10102453>
- İlhan, E., Büyükgilgi, A.N., Ermiş, E. (2020). Mavi-yeşil alg *Spirulina platensis*'in buğday ekmeğinde kimyasal, duyuusal ve antifungal etkisi. *Journal of Food and Feed Science - Technology* 24, 22–29.

- Istva, N.S., Polna, E.K., Polna, B.K., Lugasi, A. (2008). Functional food: Product development, marketing and consumer acceptance – A review. *Appetite*, 51, 456–467.
- Kaur, S., Das, M. (2011). Functional foods: An overview. *Food Science and Biotechnology*, 20, 861–875.
- Kailasapathy, K., Chin, J. (2000). Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp.* *Immunology and Cell Biology*, 78(1), 80–88.
- Kandil M. (2019). Bazı probiyotik bakterilerin gelişmesi üzerine ksantan gamin etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa.
- Karaçıl, M.Ş., Acar Tek, N. (2013). Dünyada üretilen fermente ürünler: tarihsel süreç ve sağlık ile ilişkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(2), 163–173.
- Karkos, P.D., Leong, S.C., Karkos, C.D., Sivaji, N., Assimakopoulos, D.A. (2011). Spirulina in clinical practice: evidence-based human applications. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 531053. <https://doi.org/10.1093/ecam/nen058>
- Kavimandan, A. (2015). Incorporation of *Spirulina platensis* into probiotic fermented dairy products. *International Journal of Dairy Science*, 10(1), 1–11.
- Kepekçi, R.A. (2011). *Spirulina platensis* 'in antioksidan üretiminin indüklenmesi ve karaciğer koruyucu etkisinin incelenmesi. *Doktora Tezi*, Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep.
- Kerry, R.G., Patra, J.K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H.-S., Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(3), 927–939.
- Konstantinidi, M., Koutelidakis, A.E. (2019). Functional foods and bioactive compounds: A review of its possible role on weight management and obesity's metabolic consequences. *Medicines*, 6, 94. <https://doi.org/10.3390/medicines6030094>
- Kordowska-Wiater, M., Waško, A., Polak-Berecka, M., Kubik-Komar, A., Targoński, Z. (2011). Spirulina enhances the viability of *Lactobacillus rhamnosus* E/N after freeze-drying in a protective medium of sucrose and lactulose. *Letters in Applied Microbiology*, 53, 79–83. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2011.03068.x>
- Koru, E. (2007). *Arthrospira platensis* (Natron Gölü/Çad), *Arthrospira maxima* (Natron Gölü/Çad) ve *Arthrospira platensis* (Parachas Gölü/Peru)'in suşlarının büyüme özelliklerinin karşılaştırılması. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi* 2–3(1–2), 26–29.
- Koru, E. (2012). Earth food *Spirulina (Arthrospira)*: Production and quality standarts. In: *Food Additive*, Ed. Yehia El-Samragy, IntechOpen, pp 192-202. <https://doi.org/10.5772/31848>
- König H., Fröhlich J. (2009). Lactic acid bacteria. In: *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, Eds. König H., Uden G., Fröhlich J., Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 3-29. https://doi.org/10.1007/978-3-540-85463-0_1
- Kwak, N.S., Jukes D.J. (2001). Functional foods. Part 1: The development of a regulatory concept. *Journal of Food Control*, 12, 99–107.
- Leroy, F., De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 67–78.

- Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterisation by UV–VIS. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, F4.3.1-F4.3.8. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>
- MacDonald-Wicks, L.K., Wood L.G and Garg, M.L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: A review, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2046–2056.
- Magro, F.G., Margarites, A.C., Reinehr, C.O., Gonçalves, G.C., Rodigheri, G., Costa, J.A.V., Colla, L.M. (2018). *Spirulina platensis* biomass composition is influenced by the light availability and harvest phase in raceway ponds. *Environmental Technology*, 39(14), 1868–1877.
- Malla, S., Hobbs, J.E., Sogah, E.K. (2014). Functional foods, health benefits and health claims. *Athens Journal of Health*, 1(1), 37–46.
- Markowiak P, Śliżewska K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9), 1021. <https://doi.org/10.3390/nu9091021>
- Martirosyan, D.M., Singh, J. (2015). A new definition of functional food by FFC: What makes a new definition of functional food unique? *Functional Foods in Health and Disease*, 5, 209–223.
- Matos, P.A., Feller, R., Siegel Moecke, E.H., Oliveirai, J.V., Junior, A.F., Bianchini Derner, R., Sant’Anna, E.S. (2016). Chemical characterization of six microalgae with potential utility for food application. *Journal of American Oil Chemists’ Society*, 93, 963–972.
- Mazinani, S., Fadaei, V., Khosravi-Darani, K. (2016). Impact of *Spirulina platensis* on physicochemical properties and viability of *Lactobacillus acidophilus* of probiotic UF feta cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40,1318–1324.
- Miano, T.F. (2016). Functional food – A review. *European Academic Research*, IV(6/S), 5695–5602.
- Michael, A., Kyewalyanga, M.S., Lugomela, C.V. (2019). Biomass and nutritive value of *Spirulina (Arthrospira fusiformis)* cultivated in a cost-effective medium. *Annals of Microbiology*, 69, 1387–1395.
- Minelli, E.B., Benini, A. (2008). Relationship between number of bacteria and their probiotic effects. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 20(4), 180–183, <https://doi.org/10.1080/08910600802408095>
- Mocanu, G.D., Botez, E. (2012). Milk and dairy products: vectors to create probiotic products: medicinal plants, biomass of *Spirulina platensis*. In: Probiotics, (Ed.) Everlon Cid Rigobelo, InTech Open, Croatia, pp 237–260.
- Mocanu, G.D., Botez, E., Viorela Nistor, O., Andronoiu, D.G., Vlăsceanu, G. (2013). Influence of *Spirulina platensis* biomass over some starter culture of lactic bacteria. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 19(4), 474–479.
- Mokoena, M.P. (2017). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against Uropathogens: A mini-review. *Molecules*, 22, 1255. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>
- Mokoena, M.P., Omatola, C.A., Olaniran, A.O. (2021). Applications of lactic acid bacteria and their bacteriocins against food spoilage microorganisms and foodborne pathogens. *Molecules*, 26, 7055. <https://doi.org/10.3390/molecules26227055>
- Mortazavian, A.M., Sohrabvandi, S., Mousavi, S.M., Reinheimer, J.A. (2006). Combined effects of temperature-related variables on the variables on the viability of probiotics in yogurt. *The Australian Journal of Dairy Technology*. 61(3), 248–252.

- Myers, J.A., Curtis, B.S and Curtis, W.R (2013). Improving accuracy of cell and chromophore concentration measurements using optical density. *BMC Biophysics*, 6: 4.
- Nagpal, R., Kumar, A., Kumar, M., Behare, P.V., Jain, S., Yadav, H. (2012). Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review. *FEMS Microbiology Letters*, 334(1), 1–15.
- Nasr, N.M., Khider, M., Metry, W., Atallah, K. (2017). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against *Helicobacter pylori* evidence by in vivo and in vitro studies. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(12), 4235–4247.
- Nethravathy, M.U., Mehar, J.G., Mudliar, S.N., Shekh, A.Y. (2019). Recent advances in microalgal bioactives for food, feed, and healthcare products: Commercial potential, market space, and sustainability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(6), 1882–1897.
- Niccolai, A., Bažec, K., Rodolfi, L., Biondi, N., Zlatić, E., Jamnik, P., Tredici, M.R. (2020). Lactic acid fermentation of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) in a vegetal soybean drink for developing new functional lactose-free beverages. *Frontiers in Microbiology*, 11(), 560684. doi:10.3389/fmicb.2020.560684
- Niccolai, A., Shannon, E., Abu-Ghannam, N., Biondi, N., Rodolfi, L. (2019). Lactic acid fermentation of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) biomass for probiotic-based products. *Journal of Applied Phycology*, 31, 1077–1083. <https://doi:10.1007/s10811-018-1602-3>
- Oguntoyinbo, F., Narbad, A. (2012). Molecular characterization of lactic acid bacteria and in situ amylase expression during traditional fermentation of cereal foods. *Food Microbiology*, 31, 254–262.
- Omay, D., Güvenilir, Y. (2011). Yemekhane atıklarından fermantasyonla laktik asit üretimi. *Ekoloji* 20(80), 42–50.
- Özbal, B. (2020). *Spirulina platensis* ile fonksiyonel çikolata ürünü geliştirilmesi. *Yüksek Lisans tezi*. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
- Özdemir, N., Erkmén, J. (2017). Yenilenebilir biyoplastik üretiminde alglerin kullanımı. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi / The Black Sea Journal of Sciences*, 3(8):89-104.
- Pandey, K.R., Naik, S. R., Vakil, B.V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics - A review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 7577–7587. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1921-1>
- Parada, J.L. (1998). Lactic acid bacteria growth promoters from *Spirulina platensis*. *Int J Food Microbiol.* 45: 225–228.
- Parvez, S., Malik, K.A., Ah Kang, S., Kim H.Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology* 100:1171–1185.
- Saad, S.M., Vanzin, C., Oliveira, M.N., Franco, B.D. (2001). Influence of lactic acid bacteria on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in inoculated Minas cheese during storage at 8.5 degrees C. *Journal of Food Protection*, 64(8), 1151–1155.
- Sánchez, O.J., Barragán, P.J., Serna, L. (2019). Review of *Lactobacillus* in the food industry and their culture media. *La Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(2), 63–76.
- Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Hashem, A., Abd Allah, E.F. (2019). Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26,709–722.

- Selle, K.M., Klaenhammer, T.R., Russell, W.M. (2014). *Lactobacillus-Lactobacillus acidophilus*. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 412–417.
- Sengupta, S., Koley H., Dutta, S., Bhowal, J. (2018). Hypocholesterolemic effect of *Spirulina platensis* (SP) fortified functional soy yogurts on diet-induced hypercholesterolemia. *Journal of Functional Foods*, 48, 54–64.
- Seyidođlu, N., Galip, N. (2013). *Spirulina platensis*'in hayvanlarda büyüme performansı ve bağışıklık sistemi üzerine etkisi. *Animal Health, Production and Hygiene*, 2(2), 240–244.
- Shi, L.H., Balakrishnan, K., Thiagarajah, K., Mohd Ismail, N.I., Yin, O.S. (2016). Beneficial properties of probiotics. *Tropical Life Sciences Research*, 27(2), 73–90. <https://doi.org/10.21315/tlsr2016.27.2.6>
- Shin, Y. M., Son, C. W., Sim, H. J., Kim, M. H., Kim, M. Y., Kwon, O. Y., Kim, M. R. (2008). Quality characteristics and antioxidant activity of *Spirulina* added yogurt. *Korean Journal of Food and Cookery Science*, 24(1), 68–75.
- Singh, R., Parihar, P., Singh, M., Bajguz, A., Kumar, J., Singh, S., Singh, V.P., Prasad, S.M. (2017). Uncovering potential applications of cyanobacteria and algal metabolites in biology, agriculture and medicine: Current status and future prospects. *Frontiers in Microbiology*, 8, 515. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00515>
- Sotiroudis, T.G. (2013). Health aspects of *Spirulina (Arthrospira)* microalga food supplement. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 78(3), 395–405.
- Stanbury ve diğerleri 2016,
- Stiles, M.E., Holzapfel, W.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36(1), 1–29.
- Suna G. (2020). *Spirulina platensis* ve *Chlorella vulgaris* ile zenginleştirilmiş probiyotik beyaz peynir üretiminin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa.
- Syngai, G.G., Gopi, R., Bharali, R., Dey, S., Lakshmanan, G.M., Ahmed, G. (2016). Probiotics - the versatile functional food ingredients. *Journal of Food Science and Technology*, 53(2), 921–933.
- Şahin Cebeci, O.I. (2015). *Spirulina platensis*'ten farklı ortam koşullarında biyokütle ve gama-linolenik asit üretimi. *Doktora Tezi*, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa.
- Şahin, O.I. (2020). Functional and sensorial properties of cookies enriched with *Spirulina* and *Dunaliella* biomass. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 3639–3646.
- Şişman Aydın, G. (2010). Mikroalg teknolojisi ve çevresel kullanımı. *Harran Üniversitesi Mühendislik Dergisi*, 4(1), 81–92.
- Teksoy Ş., (2020). Karpuz ve kavun çekirdeklerinin bazı probiyotik bakterilerin gelişmesi üzerine etkisinin in vitro incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa.
- Tohamy, M.M., Shaaban, H.A., Ali, M.A., Hasanain, A.M.(2019). Effect of *Spirulina platensis* as nutrition source on the chemical, rheological and sensory properties of spreadable processed cheese. *Journal of Biological Sciences*, 19(1), 84–91.
- Torun, Z., Konuklugil, B. (2020). Makroalglerin prebiyotik etkileri. *Ege Su Ürünleri Dergisi*, 37(1), 103–112.
- Ünver Alçay, A., Bostan, K., Dinçel, E., Varlık, C. (2017). Alglerin insan gıdası olarak kullanımı. *Aydın Gastronomy*, 1(1), 47–59.
- Vandenplas, Y., Huys, G., Daubec, G. (2015). Probiotics: An update. *Journal de Pediatria*, 91(1), 6–21.

- Varga, L. (2012). Manufacturing technology for a *Spirulina*-enriched mesophilic fermented milk. International Scientific Conference, March 26-27 Sopron, Hungary.
- Varga, L., Szigeti, J., Kovacs, R., Földes, T., Buti, S. (2002). Influence of a *Spirulina platensis* biomass on the microflora of fermented ABT milks during storage (R1). *Journal of Dairy Science*, 85(5), 1031–1038.
- Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2008). Probiotics – from Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18, 714– 728.
- Villarruel-López A., Ascencino, F., Nuño, K. (2017). Microalgae, a potential natural functional food source – a review. *Polish Journal of Food and Nutritional Sciences*, 67(4), 251–263.
- Vieco-Saiz, N., Belguesmia, Y., Raspoet, R., Auclair, E., Gancel, F., Kempf, I., Drider, D. (2019). Benefits and inputs from lactic acid bacteria and their bacteriocins as alternatives to antibiotic growth promoters during food-animal production. *Frontiers in Microbiology*, 10, 57. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00057>
- Wang, Y., Tibbetts, S.M., McGinn, P.J. (2021a). Microalgae as sources of high-quality protein for human food and protein supplements. *Foods*, 10, 3002. <https://doi.org/10.3390/foods10123002>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., Geng, W. (2021b). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Yap, P.C., MatRahim, N. A., AbuBakar, S., Lee, H.Y. (2021). Antilisterial potential of lactic acid bacteria in eliminating *Listeria monocytogenes* in host and ready-to-eat food application. *Microbiological Research*, 12, 234–257.
- Yılmaz Aksu, F., Sandıkçı Altunatmaz, S., Kahraman, T. (2010). Probiyotik gıdalar ve insan sağlığı üzerindeki etkileri. *Anadolu Bil Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 19, 90–94.
- Yılmaz Kargın, H., Duru, M. D. (2011). Siyanobakteri *Spirulina platensis*'in Besin Kimyası ve Mikrobiyolojisi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4(1), 31–43.
- Yılmaz, M. (2004). Prebiyotik ve Probiyotikler. *Güncel Pediatri*, 2: 142-145.
- Yu, J., Ma, D., Qu, S., Liu, Y., Xia, H., Bian, F., Zhang, Y., Huang, C., Wu, R., Wu, J., You, S., Bi, Y. (2020). Effects of different probiotic combinations on the components and bioactivity of *Spirulina*. *Journal of Basic Microbiology*, 60, 543–557. [doi:10.1002/jobm.201900699](https://doi.org/10.1002/jobm.201900699)
- Yücel Şengün, İ. (2011). Fermente gıdaların üretiminde kullanılan laktik asit bakterileri. *Biological Diversity and Conservation*, 4(1), 42–53.
- Yücepete, A., Özçelik, B. (2016). Bioactive peptides isolated from microalgae *Spirulina platensis* and their biofunctional activities. *Akademik Gıda*, 14(4), 412–417.
- Yüksekdağ, Z.N., Beyatlı, Y. (2003). Kefir mikroflorası ile laktik asit bakterilerinin metabolik, antimikrobiyal ve genetik özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 01(02), 49–69.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C.M.A.P., Harris, H.M.B., Mattarelli, P., O'Toole, P.W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G.E., Gänzle, M.G., Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus beijerinckii* 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70, 2782–2858.

Zielińska, D., Ołdak, A., Rzepkowska, A., and Zieliński, K. (2018). Enumeration and identification of probiotic bacteria in food matrices. In: *Advances in Biotechnology for Food Industry*, A. M. Holban, and A. M. Grumezescu (eds), Academic Press, London, pp 67–196.